



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier

Discipline ou spécialité : *Sciences et Génie des Matériaux*

Présentée et soutenue par *Frédéric ROIG*

Le 15 Février 2011

Titre : *Transitions et dynamique relaxationnelle de polymères issus de la paroi végétale*

JURY

Pr. Armand COUJOU	PR Université de Toulouse	(Président du Jury)
Dr. Gisèle BOITEUX	DR CNRS Université de Lyon 1	(Rapporteur)
Pr. Jean-Marc SAITER	PR Université de Rouen	(Rapporteur)
Dr. Emeline DUODOGNON	MC Université de Lille 1	(Examineur)
Dr. Jean ALIE	IR&D Sanofi-Aventis Montpellier	(Examineur)
Dr. Jacqueline GRIMA-PETTENATI	DR CNRS Université de Toulouse	(Examineur)
Dr. Golnaz JAFARPOUR MOGHADDAM	IR INP Toulouse	(Invité)
Dr. Eric DANTRAS	MC Université de Toulouse	(Directeur de Thèse)
Pr. Colette LACABANNE	PR Université de Toulouse	(Directrice de Thèse)

Ecole doctorale : *Sciences de la Matière*

Unité de recherche : *CIRIMAT/Physique des Polymères*

Directeur(s) de Thèse : *Pr. Colette LACABANNE, Dr. Eric DANTRAS*

Remerciements

Cette étude, financée par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, a été réalisée au sein de l'équipe de Physique des Polymères, Institut Carnot Cirimat, en collaboration avec l'équipe Génomique fonctionnelle de l'Eucalyptus du Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales. Ce travail de recherche a été effectué à l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Je tiens à remercier Monsieur Armand Coujou, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse au Centre d'Elaboration de Matériaux et d'Etudes Structurales, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je remercie également Madame Gisèle Boiteux, Directrice de Recherche Cnrs du Laboratoire des Matériaux Polymères et des Biomatériaux à l'Université de Lyon 1, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce sujet et du travail minutieux qu'elle a réalisé pour l'amélioration de mon mémoire de thèse.

Je suis reconnaissant envers Monsieur Jean-Marc Sailer, Professeur à l'Université de Rouen au Laboratoire d'Etude et de Caractérisation des Amorphes et des Polymères, d'avoir accepté d'examiner mon travail et de ses questions pertinentes lors de ma soutenance de thèse.

Ma gratitude va également aux autres membres du jury :

Dr Emeline Dudognon, Maître de Conférences à l'Université de Lille 1 au Laboratoire Unité Matériaux et Transformations, Dr Jean Alié, Ingénieur R-D à Sanofi-Aventis de Montpellier, Dr Golnaz Jafarpour Moghaddam, Ingénieur à l'Institut National Polytechnique de Toulouse, Dr Jacqueline Grima-Pettenati, Directrice de Recherche Cnrs au Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales, grâce à qui cette étude a été possible.

J'exprime toute ma reconnaissance et mon plus profond respect au Professeur Colette Lacabanne et au Docteur Eric Dantras. Je les remercie de m'avoir accueilli au sein de

leur équipe de recherche ainsi que pour leurs conseils avisés qui ont contribué à la réussite de cette thèse. J'aimerais leur adresser par ces quelques mots mon amitié la plus sincère.

Je souhaite également remercier tous les autres membres de l'équipe Physique des Polymères et plus particulièrement au Docteur Hervé Hoyet avec qui j'ai échangé de nombreuses discussions sur des thèmes divers et variés.

J'exprime également toute ma sympathie à l'équipe de Cryogénie.

Enfin, je ne saurais terminer ces remerciements sans penser à ma Famille, à mes Parents sans qui tout cela n'aurait pas été possible et à Elodie qui m'a toujours soutenu.

Transitions et dynamique relaxationnelle de polymères issus de la paroi végétale

Frédéric ROIG

Physique des Polymères, Institut Carnot CIRIMAT, UMR CNRS 5085

Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09

Dans un futur proche, l'augmentation de CO₂ stimulera le processus de photosynthèse et pourrait permettre un accroissement considérable de la matière végétale. Comparativement aux sources d'énergie fossile comme le pétrole ou le charbon, la matière végétale représente une ressource renouvelable chaque année. La connaissance de ses propriétés physico-chimiques est primordiale. La modification du patrimoine génétique de certaines espèces végétales permet d'identifier les gènes responsables de la synthèse des polymères constitutifs.

L'objectif de ce travail de thèse est d'appliquer des techniques d'analyse thermique couplées à la spectroscopie diélectrique, à l'étude de la structure dynamique de la paroi végétale de l'*Arabidopsis Thaliana*.

Dans une approche analytique, les principaux polymères pariétaux extraits : la cellulose et la lignine, sont étudiés. La transition vitreuse de chaque polymère ainsi que la mobilité moléculaire localisée et délocalisée ont été déterminées.

La cellulose étant le constituant structural majeur de la paroi végétale, une attention particulière a été accordée à l'influence de son interaction avec l'eau sur sa structure physique. La diminution de la température de transition vitreuse quand le taux d'hygrométrie augmente, est caractéristique d'un phénomène de plastification.

L'étude comparative du composite végétal naturel avec ses polymères pariétaux a montré la contribution de la cellulose et de la lignine dans la dynamique de chaîne de l'*Arabidopsis Thaliana*. Ces interprétations mettent en évidence l'influence des modifications génétiques sur les interactions inter et intra moléculaires des polymères pariétaux.

MOTS-CLES : Biomasse, Composites naturels, Arabidopsis Thaliana, Cellulose, Lignine, Mutants, Transition Vitreuse, Modes de Relaxation, Mobilité Moléculaire, Liaisons Hydrogène

Transitions and relaxation dynamics of polymers from plant cell walls

Frédéric ROIG

Physique des Polymères, Institut Carnot CIRIMAT, UMR CNRS 5085

Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09

In the future, increasing CO₂ will stimulate the photosynthesis process and could allow a substantial increase in plant material. Compared to fossil fuels like oil or char, plant matter represents an annually renewable resource. Knowledge of its physicochemical properties is essential. The gene mutations of plant species allow identifying genes responsible for synthesis of the constituent polymers.

The objective of this thesis is to apply thermal analysis techniques coupled with dielectric spectroscopy, to study the dynamic structure of plant cell walls of *Arabidopsis Thaliana*.

In an analytical approach, the major cell wall polysaccharides extracted: cellulose and lignin, are studied. The glass transition of each polymer and the localized and delocalized molecular mobility were determined.

Cellulose is the major structural component of plant cell walls; special attention was paid to the influence of its interaction with water on its physical structure. The decrease in glass transition temperature when the humidity increases, is a characteristic phenomenon of plasticization.

The comparative study of the composite with natural plant cell wall polymers showed the contribution of cellulose and lignin in the dynamic chain of *Arabidopsis Thaliana*. These interpretations highlight the impact of genetic modifications on the interactions between and within molecular cell wall polymers.

Keywords: *Biomass, Natural Composites, Arabidopsis Thaliana, Cellulose, Lignin, Mutants, Glass Transition, Relaxation Modes, Molecular Mobility, Hydrogen bonds*

Table des matières

Introduction.....	7
--------------------------	----------

Chapitre 1 : Etude Bibliographique

I. Matière végétale de l'échelle microscopique à l'échelle macroscopique ...	26
---	-----------

I.1 Polymères végétaux.....	26
------------------------------------	-----------

I.1.1 Cellulose	26
I.1.2 Hémicelluloses	28
I.1.3 Pectines	29
I.1.4 Lignine	30

I.2 Paroi végétale / matrice extracellulaire	33
---	-----------

I.2.1 Constitution de la paroi végétale	34
a) Paroi primaire	34
b) Paroi secondaire	34

I.3 Arabidopsis Thaliana : angiosperme dicotylé	36
--	-----------

I.3.1 Plante modèle	36
---------------------------	----

II. Relation eau-polysaccharide	37
--	-----------

II.1 Sorption de l'eau dans les polymères	37
--	-----------

II.1.1 Différents phénomènes de sorption.....	37
II.1.2 Absorption d'eau	38
a) Approche volumétrique	38
b) Approche moléculaire	38
II.1.3 Diffusion de l'eau	38

II.2 Interaction eau-polymère.....	40
---	-----------

Chapitre 2 : Matériaux et Méthodes

I. Matériaux.....	46
I.1 Plante modèle et constituants majeurs.....	46
I.2 Arabidopsis Thaliana génétiquement modifiée.....	47
II. Méthodes.....	48
II.1 Caractérisation physico-chimique.....	48
II.1.1 Analyse ThermoGravimétrique couplée InfraRouge (ATG/IRTF)	48
a) Principe	48
b) Dispositif expérimental	48
c) Analyse des thermogrammes ATG	49
II.1.2 Analyse Calorimétrique Diatherme (ACD).....	50
a) Principe	50
b) Dispositif Expérimental	51
c) Analyse des thermogrammes ACD	51
II.2 Analyse diélectrique	52
II.2.1 Relaxation diélectrique	52
II.2.2 Origine de la polarisation.....	53
a) Approche macroscopique	53
b) Approche microscopique.....	53
c) Les différents mécanismes de polarisation	54
II.2.3 Dépendance en température des temps de relaxation.....	55
a) Dépendance linéaire : comportement de type Arrhenius.....	55
b) Dépendance non linéaire : comportement de type Vogel-Fulcher-Tammann.....	55
II.2.4 Spectroscopie Diélectrique Dynamique (SDD).....	56
a) Principe	56
b) Dispositif expérimental	57
c) Analyse des spectres	57
II.2.5 Courant thermostimulé (CTS).....	60
a) Principe	60
b) Dispositif expérimental	61
c) Analyse des thermogrammes.....	62
III. Protocole d'hydratation d'un polymère cellulosique	67
III.1 Utilisation de solutions salines saturées.....	67
III.2 Utilisation de l'humidité relative ambiante	67
III.3 Calcul du taux d'hygrométrie.....	68

Chapitre 3 : Propriétés Physiques des Polymères Pariétaux

I. Cellulose	72
I.1 Propriétés thermiques	72
I.1.1 Stabilité thermique	72
I.1.2 Transition vitreuse.....	76
I.2 Propriétés diélectriques.....	78
I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	78
I.2.2 Mobilité moléculaire localisée	81
II. Lignine.....	86
II.1 Propriétés thermiques	86
II.1.1 Stabilité	86
II.1.2 Transition.....	87
II.2 Propriétés diélectriques.....	88
II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	88
II.2.2 Mobilité moléculaire localisée	90
III. Discussion sur les polymères pariétaux	93
III.1 Stabilité thermique.....	93
III.2 Corrélation Transition vitreuse – Relaxation primaire	94
III.2.1 Cellulose	94
III.2.2 Lignine	98
III.3 Relaxations secondaires	102

Chapitre 4 : Influence de l'Hydratation sur les Polymères Pariétaux

I.	Transition vitreuse de la cellulose et plastification.....	108
II.	Relaxations de la cellulose et hygrométrie	109
III.	Discussion	117
III.1	Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire délocalisée	117
III.2	Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire localisée	121

Chapitre 5 : Influence des Modifications Génétiques

I. Arabidopsis Thaliana à l'état natif sauvage	130
I.1 Propriétés thermiques	130
I.1.1 Stabilité thermique	130
I.1.2 Transitions thermiques	132
I.2 Propriétés diélectriques	133
I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	133
I.2.2 Mobilité moléculaire localisée	138
II. Arabidopsis Thaliana mutantes	143
II.1 Propriétés thermiques	143
II.1.1 Stabilité thermique	143
II.1.2 Transitions thermiques	145
II.2 Propriétés diélectriques	147
II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	147
II.2.2 Mobilité moléculaire localisée	149
III. Discussion	157
III.1 Influence des modifications génétiques sur les structures chimique et physique	157
III.1.1 Structure chimique	157
III.1.2 Structure physique	158
III.2 Influence des modifications génétiques sur la mobilité moléculaire	159
III.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	159
III.2.2 Mobilité moléculaire localisée	161
Conclusion	151
Références Bibliographiques	157
Annexes	170

Introduction

La biomasse, au sens de l'ensemble des matières organiques d'origine végétale, animale ou fongique, possède un potentiel reconnu en ce qui concerne le développement de nouvelles ressources d'énergie mais aussi de nouveaux matériaux. Parmi les trois précitées, la matière végétale constitue la première source de biomasse. L'augmentation du dioxyde de carbone, prévue dans les années à venir, stimulera le processus de photosynthèse des plantes à chlorophylle et permettra une augmentation de la biomasse de l'ordre de 20%. Contrairement aux sources d'énergie fossile comme le pétrole ou le charbon, la matière végétale constitue une ressource renouvelable. La connaissance de ses propriétés physico-chimiques est à ce titre primordial.

Une plante est un composite végétal constitué majoritairement de trois macromolécules : la cellulose, la lignine et l'hémicellulose. La manipulation du génome de certaines espèces végétales permet d'identifier les gènes responsables de la synthèse des polymères constitutifs et de modifier leur teneur respective par rapport à l'état natif. Désormais, l'étude des propriétés physiques des plantes peut être envisagée en étroite collaboration avec les biologistes et les généticiens. Les premiers travaux sur les plantes transgéniques ont été publiés dès les années 1980. Les généticiens ont réussi à transférer des gènes de bactéries dans un organisme receveur : le tabac. Ce dernier a acquis la résistance à un antibiotique et la sélection de ces plantes réceptrices a été effectuée sur un milieu de culture contenant l'antibiotique en question. La transgénèse végétale est devenue rapidement un outil indispensable pour la recherche fondamentale. Les applications potentielles sont encore, de nos jours, très prometteuses. A titre d'exemple, des plantes pourraient résister à des virus, des champignons, des insectes ou encore leurs teneurs en lipides, en vitamines, en acides aminés pourraient être modifiées. La matière végétale pourrait fournir des précurseurs de polymères synthétiques, de médicaments ou de vaccins. La conservation des fruits serait améliorée. Dans l'industrie papetière, la diminution du taux de lignine permettrait une économie d'énergie et une diminution notable de la pollution liée à l'utilisation de solvants lors de son extraction.

La stratégie des généticiens est de concentrer les recherches sur une plante ayant le plus petit génome possible, afin de pouvoir l'analyser. Ensuite, les informations

acquises permettront d'amorcer l'exploration de génomes plus complexes. L'*Arabidopsis Thaliana* a été choisie par les généticiens qui ont réalisé le séquençage complet de son génome. Cette plante présente en outre d'autres avantages comme sa croissance rapide et sa facilité de culture en laboratoire.

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier la structure dynamique de la paroi végétale de l'*Arabidopsis Thaliana*, à l'aide de l'analyse thermique couplée aux techniques diélectriques, pour interpréter l'influence des modifications génétiques à l'échelle moléculaire.

Ce mémoire est structuré en cinq chapitres :

Le premier chapitre se subdivise en deux parties. Dans la première, les connaissances bibliographiques sur les principaux polymères végétaux sont rappelées, ainsi que leur organisation dans la paroi végétale. La deuxième partie de ce chapitre est consacrée à l'état de l'art sur la relation entre l'eau et les polymères ainsi que sa structure dans le matériau.

Le deuxième chapitre présente les matériaux étudiés, les techniques expérimentales utilisées au cours de cette étude ainsi que la méthodologie de contrôle de l'hygrométrie du matériau cellulose. Nous rappelons enfin les principales théories phénoménologiques ou moléculaires impliquées dans l'interprétation de la mobilité moléculaire en relation avec la structure physique des polymères.

Les comportements thermiques et diélectriques de chacun des polymères pariétaux principaux, la cellulose et la lignine sont présentés dans le troisième chapitre. La stabilité des polymères pariétaux est abordée. Ensuite les corrélations entre les différentes techniques permettent de déterminer les manifestations de la transition vitreuse de la cellulose et de la lignine. Enfin, le dernier point de cette discussion traite des relaxations diélectriques dans les polymères pariétaux.

Le quatrième chapitre s'intéresse plus particulièrement à l'interaction entre le constituant structural majeur de la paroi végétale, la cellulose et l'eau. L'influence des molécules d'eau sur la structure physique de la cellulose est étudiée.

Le dernier chapitre est consacré à l'analyse de la plante *Arabidopsis Thaliana* naturelle et des différentes plantes mutantes. La comparaison des résultats entre le composite végétal modifié génétiquement ou non et ses polymères pariétaux permet d'interpréter l'influence des modifications génétiques sur les interactions inter et intra moléculaires des polymères pariétaux.

Chapitre I

Etude Bibliographique

I.	Matière végétale de l'échelle microscopique à l'échelle macroscopique ...	26
I.1	Polymères végétaux.....	26
I.1.1	Cellulose	26
I.1.2	Hémicelluloses	28
I.1.3	Pectines	29
I.1.4	Lignine	30
I.2	Paroi végétale / matrice extracellulaire	33
I.2.1	Constitution de la paroi végétale	34
a)	Paroi primaire	34
b)	Paroi secondaire	34
I.3	Arabidopsis Thaliana : angiosperme dicotylé	36
I.3.1	Plante modèle	36
II.	Relation eau-polysaccharide	37
II.1	Sorption de l'eau dans les polymères	37
II.1.1	Différents phénomènes de sorption.....	37
II.1.2	Absorption d'eau	38
a)	Approche volumétrique	38
b)	Approche moléculaire	38
II.1.3	Diffusion de l'eau	38
II.2	Interaction eau-polymère	40

I. Matière végétale de l'échelle microscopique à l'échelle macroscopique

I.1 Polymères végétaux

Les polymères végétaux font partie de la classe des polymères naturels qui ont pour origine la matière vivante. Les polymères constitutifs des parois végétales synthétisés par les plantes se regroupent en deux grandes catégories : les polysaccharides tels que la cellulose, les hémicelluloses, les pectines et les polyphénols comme la lignine.

I.1.1 Cellulose

La cellulose est le polymère le plus abondant sur Terre. Elle représente plus de la moitié de la biomasse. Chaque année la nature produit plus de 10^{10} tonnes de cellulose. Cette macromolécule linéaire est constituée d'unités de cellobiose. Cette dernière est l'association de deux glucoses en conformation chaise liés en β_{1-4} par une liaison covalente et tournés de 180° l'un par rapport à l'autre (Figure I-1).

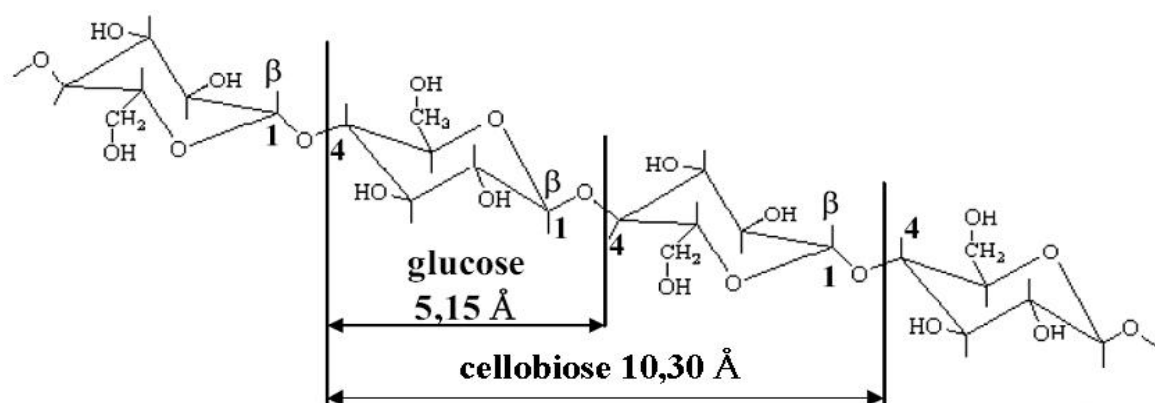


Figure I-1 : Macromolécule de cellulose

La cellulose est le constituant structural des plantes. Elle fournit la contribution majeure de la résistance mécanique des végétaux [1]. Sa phase amorphe possède un grand nombre de groupements hydroxyles susceptibles de former des liaisons hydrogène avec d'autres molécules comme l'eau [2]. Dans les régions cristallines, la formation d'un nombre important de liaisons hydrogène intra et intermoléculaires confère à la cellulose une résistance aux solvants [3] et une

stabilité à haute température qui empêche la fusion. Le degré de polymérisation (DP) de la cellulose à l'état natif dépend de l'espèce végétale (Tableau I-1).

Sources de Cellulose	Degré de polymérisation (DP)
Algue valonia	20000-26000
Coton	10000-12000
Cellulose bactérienne	2000-2700
Bois	600-1200
Cellulose régénérée	250-500
Poudre de cellulose	100-250

Tableau I-1 : Gamme de degré de polymérisation de différentes sources de cellulose [4,5]

L'existence de nombreuses liaisons hydrogène intra/intermoléculaires est responsable de la formation de structures dites supramoléculaires. Cette structure naturelle de la cellulose consiste en des microfibrilles composées de 30 à 40 chaînes de cellulose [6], dont l'agrégation forme des fibrilles puis des fibres rigides (Figure I-2).

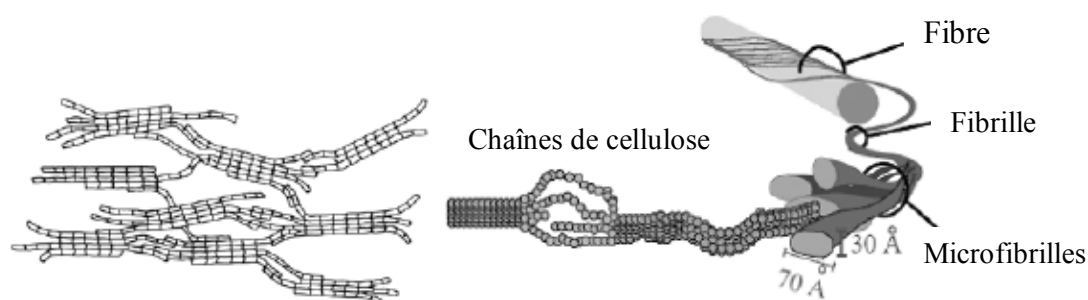


Figure I-2 : Organisation de la structure fibrillaire de la cellulose [3,5]

Il existe plusieurs variétés polymorphiques qui décrivent la structure cristalline de la cellulose. On distingue par diffraction des rayons X jusqu'à quatre structures cristallines différentes nommées de I à IV [6,7]. La cellulose sous sa forme naturelle ou cellulose native est nommée I. Sa structure cristallographique déterminée par diffraction des rayons X et spectrométrie infrarouge est une maille monoclinique qui possède deux chaînes de cellulose disposées parallèlement à l'axe b, de sens opposées le long de l'axe des fibres (Figure I-3).

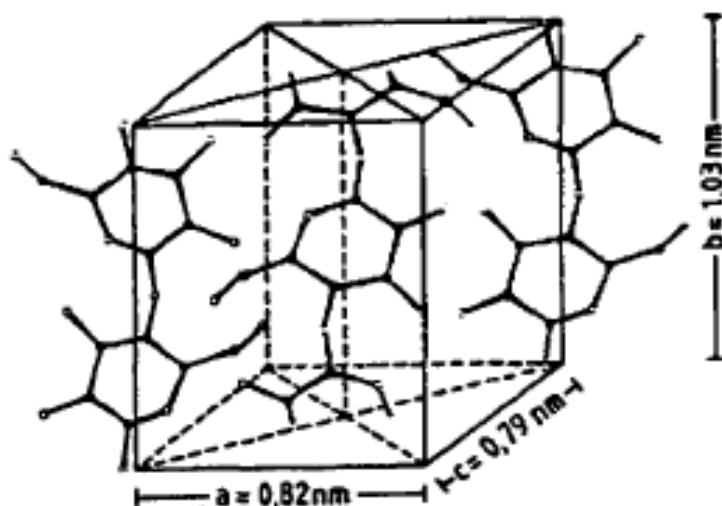


Figure I-3 : Maille cristalline de la cellulose [8]

Les cycles de glucose sont situés dans le plan ab . Les chaînes macromoléculaires sont unies latéralement par des liaisons hydrogène. En 1984, Venderhart et al. ont mis en évidence par résonance magnétique nucléaire du carbone que la cellulose native possédait deux allomorphes notés I_α et I_β [9]. La forme cristalline I_α est dominante chez les espèces ayant une architecture simple et moins développée comme les algues, par opposition aux plantes dont l'architecture est plus complexe où la structure cristalline I_β est plus probable [10,11]. Des recherches antérieures ont montré que le réseau cristallin I_α résulte de la répétition d'une maille triclinique primitive et la phase I_β plus stable thermodynamiquement [12], de la répétition d'une maille monoclinique (Figure I-3).

I.1.2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses sont des polysaccharides, composées de plusieurs oses simples et de résidus glycosyl liés en β_{1-4} . La conformation identique de la cellulose et des hémicelluloses permet des liaisons fortes et non covalentes. Toutefois l'hyperamification bloque la création de structures complexes telles que les microfibrilles.

Pour la plupart des plantes l'hémicellulose la plus importante est un xyloglucane [13] (Figure I-4). Les autres hémicelluloses les plus connues sont les xylanes incluant l'arabinoxylane, le glucuronoxylane et le glucuronoarabinoxylane

[14], ainsi que les mannoses contenant des hémicelluloses incluant le mannane, le galactomannane et le galactoglucomannane [15].

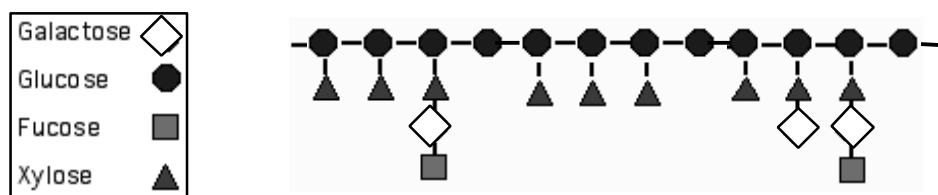


Figure I-4 : Structure primaire du xyloglucane présente dans la plupart des plantes

I.1.3 Pectines

Ces polysaccharides sont de trois types : l'homogalacturonane, les galacturonanes substitués et le rhamnogalacturonane-I (RG-I) [13,16,17,18].

Le squelette des pectines est principalement constitué d'acide « α - D - (1 - 4) galactopyranosyluronique (GalpA) ».

L'homogalacturonane peut représenter plus de 60% de la masse sèche de la pectine dans la paroi primaire chez les dicotylédones ou chez les monocotylédones non graminacées. Sa chaîne principale est constituée de résidus de GalpA dont certains groupements (-COOH) peuvent être méthylés. En fonction du type de plantes, les monomères d'homogalacturonane peuvent être estérifiés par l'acide acétique [17,18, 19, 20] (Figure I-5). Différentes formes de galacturonanes substitués sont présentes dans la nature. Cependant leur structure de chaînes est similaire à celle de l'homogalacturonane. Un exemple de ces pectines est le rhamnogalacturonane-II (RG-II) constitué de la chaîne principale de l'homogalacturonane. Le troisième type de pectines, le rhamnogalacturonane-I (RG-I) est constitué des unités α -L-(1-2) rhamnose (Rhap) qui interrompent la chaîne principale formée de GalpA.

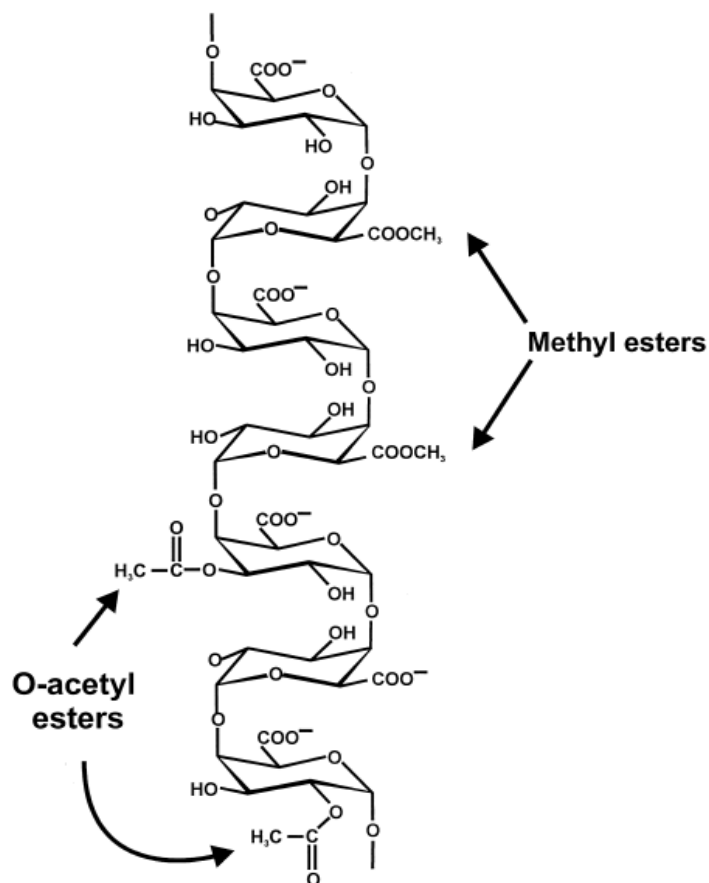


Figure I-5 : Structure primaire du polymère linéaire d'homogalacturonane composé de 1,4 α -D-GalpA dont certaines fonctions sont estérifiées par l'acide acétique [18]

I.1.4 Lignine

La lignine est le second biopolymère organique majoritaire chez les plantes après la cellulose. Ce polymère amorphe tridimensionnel chasse l'eau contenue dans la paroi cellulaire pendant sa formation. Il rend les parois cellulaires hydrophobes et augmente leur rigidité. Certains végétaux peuvent ainsi mesurer plusieurs mètres sans plier sous leur propre poids [21]. La lignine influence les propriétés rhéologiques des tissus végétaux. Cette influence n'est pas toujours favorable. La fabrication de la pâte à papier par exemple est plus difficile à cause de la lignine qui constitue un composant à éliminer lors de l'extraction de cellulose. La digestibilité des fourrages pour les animaux d'élevage dépend également de la teneur en lignine. Par contre, grâce à un fort pourcentage en carbone la lignine contribue fortement à la valeur calorifique du bois. Dans l'utilisation du bois comme combustible une forte proportion de lignine est un avantage [22]. Dans le but de

contrôler la proportion de lignine dans les plantes, plusieurs projets de recherche en biotechnologie ont été établis en se basant sur des modifications génétiques.

La structure chimique de la lignine n'est pas bien définie car il est difficile de l'extraire sans lui faire subir de dégradations ; d'ailleurs le terme « lignine » désigne un groupe de polymères dont la structure est influencée par les conditions de polymérisation. De plus les trois monomères de la lignine (alcools phénoliques Figure I-6) peuvent s'assembler de multiples façons formant une structure tridimensionnelle très ramifiée.

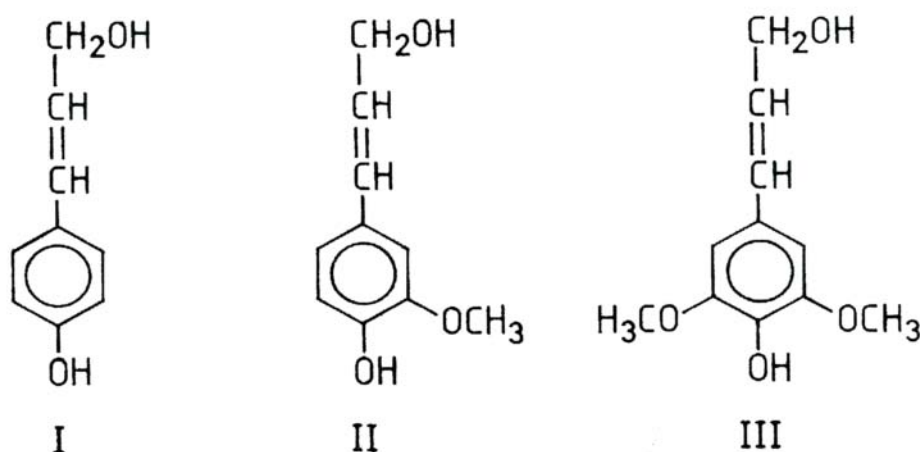


Figure I-6 : Les trois monomères de la lignine : alcool coumarylique (I), alcool coniférylique (II), alcool sinapylique (III)

La figure I-7 propose un exemple possible de lignine et souligne la complexité structurale de ce polymère [23].

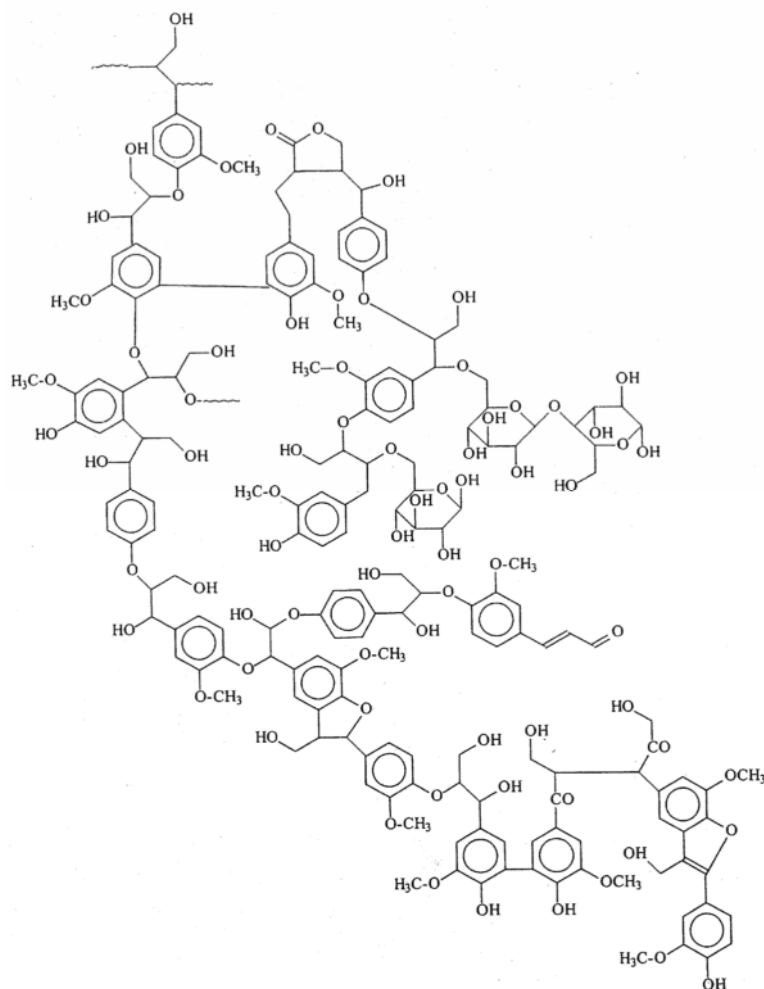


Figure I-7 : Structure possible de la lignine

La composition chimique exacte de la lignine ne peut pas être déterminée précisément contrairement aux autres polymères constituant la paroi végétale [24]. L'origine de cette complexité est attribuée aux conditions de polymérisation de la lignine et à l'inévitable diversité naturelle. Les différents facteurs influençant la polymérisation et la formation de lignine sont mis en évidence par Terashima [25,26] :

- Les monomères de la lignine varient selon le type et l'âge de la cellule
- L'aspect séquentiel de la lignification suit les étapes de formation de la paroi primaire puis secondaire. Dans le temps et l'espace, les lignines synthétisées peuvent différer au sein même de la paroi d'une cellule.

- Les conditions de polymérisation peuvent être influencées par les quantités relatives des monomères, l'activité des enzymes, le pH du site de réaction, la présence de composés inorganiques comme le calcium...

Des modèles structuraux décrivent la structure de la lignine : i.e. les plus utilisés sont ceux de Freudenberg (1968) et Adler (1977). Ces deux modèles présentent la lignine comme constituée de noyaux phénoliques diversement substitués dont l'arrangement structural apparaît comme irrégulier et particulièrement complexe. Cependant une étude récente sur les lignines de paille de blé extraites par le procédé CIMV [27] conclut pour la première fois à une structure linéaire de la lignine (Figure I-8) [28,29].

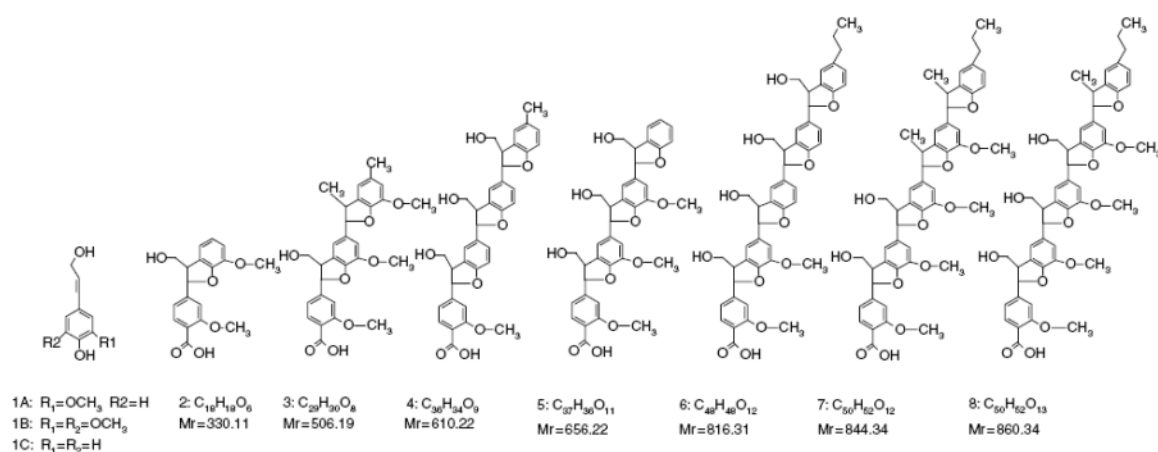


Figure I-8 : Structure chimique de différents fragments de la lignine de paille de blé

I.2 Paroi végétale / matrice extracellulaire

Toutes les cellules végétales ou animales sont constituées d'un cytoplasme délimité par une membrane plasmique. Cependant seules les cellules végétales sont entourées d'une paroi (Figure I-10). Celle-ci à l'extérieur de la membrane plasmique fait partie d'un espace nommé l'apoplaste incluant l'ensemble des parois des cellules, des lamelles moyennes entre les parois de cellules adjacentes (appelées également lamelles mitoyennes), des espaces vides intercellulaires, de l'eau et des solutés. La paroi végétale ne constitue pas une limite externe fixe de la cellule végétale. Elle peut être décrite comme un organe dynamique. Certains auteurs préfèrent l'appeler « matrice extracellulaire » [30] ou « matrice exocellulaire » [31,32].

I.2.1 Constitution de la paroi végétale

a) Paroi primaire

La paroi primaire est la première à se former d'épaisseur très fine de 0,03 à 1 μm . Elle est constituée principalement de polysaccharides (90% de la masse sèche), les autres constituants en quantités plus faibles sont des glycoprotéines structurales, des esters phénoliques, des minéraux, de l'eau et des enzymes. D'après les modèles proposés par certains auteurs [32,33], les microfibrilles de cellulose sont enrobées d'une matrice de protéine et entremêlées avec des polysaccharides non cellulosiques (Figure I-9). Ces derniers sont les hémicelluloses et les pectines. Les hémicelluloses sont liées par des liaisons hydrogène aux microfibrilles de cellulose. Les pectines augmentent la complexité de la matrice. En faible quantité, certains minéraux comme le calcium, forment des liaisons ioniques entre deux chaînes de pectines ce qui influence considérablement les propriétés structurales de la paroi [18].

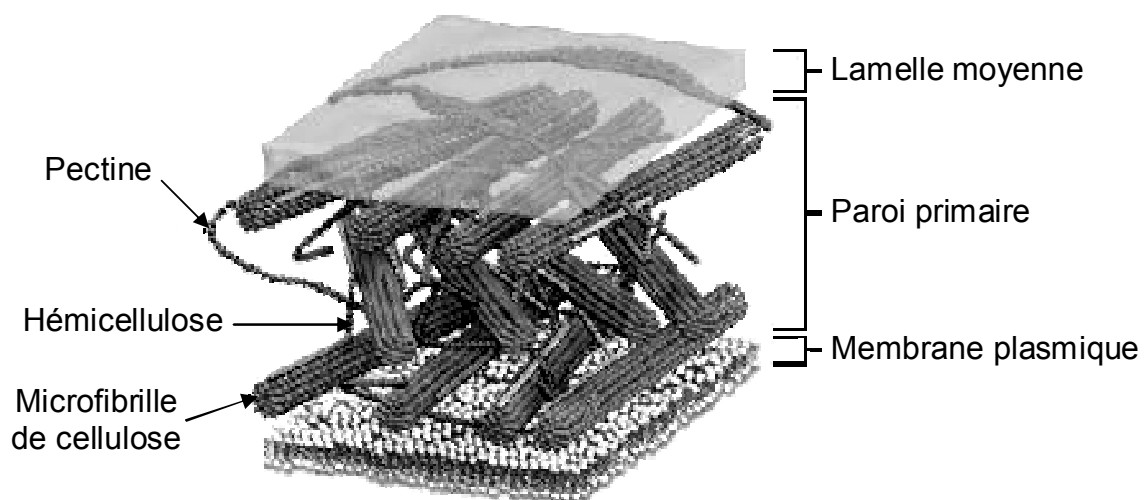


Figure I-9 : Architecture de la paroi primaire [34,35]

b) Paroi secondaire

La paroi secondaire est rigide et peut atteindre jusqu'à 10 μm d'épaisseur. Elle apparaît dans les cellules matures c'est-à-dire les cellules qui ont fini leur croissance. Sa composition est voisine de la paroi primaire avec essentiellement des microfibrilles de cellulose et des chaînes d'hémicellulose. Les deux différences

majeures par rapport à la paroi primaire sont une faible teneur en pectine [36] et surtout l'apparition de la lignine. La paroi secondaire est composée de trois couches distinctes appelées S_1 , S_2 et S_3 chacune composée de plusieurs plans de microfibrilles de cellulose (Figure I-10). A l'intérieur de ces plans les microfibrilles sont disposées parallèlement. Dans chaque plan, les faisceaux de microfibrilles décrivent une hélice dont l'angle formé avec le grand axe de la cellule diffère d'une couche à l'autre. La couche centrale S_2 est la plus importante car elle est la plus épaisse (de 0,5 à 8 μm) et son angle d'inclinaison est le plus faible des trois couches ce qui implique une grande résistance mécanique. La rigidité de la cellule dépend donc de cette couche centrale S_2 . Les couches S_1 et S_3 plus fines ont la particularité d'avoir les microfibrilles perpendiculaires à l'axe de la cellule [37].

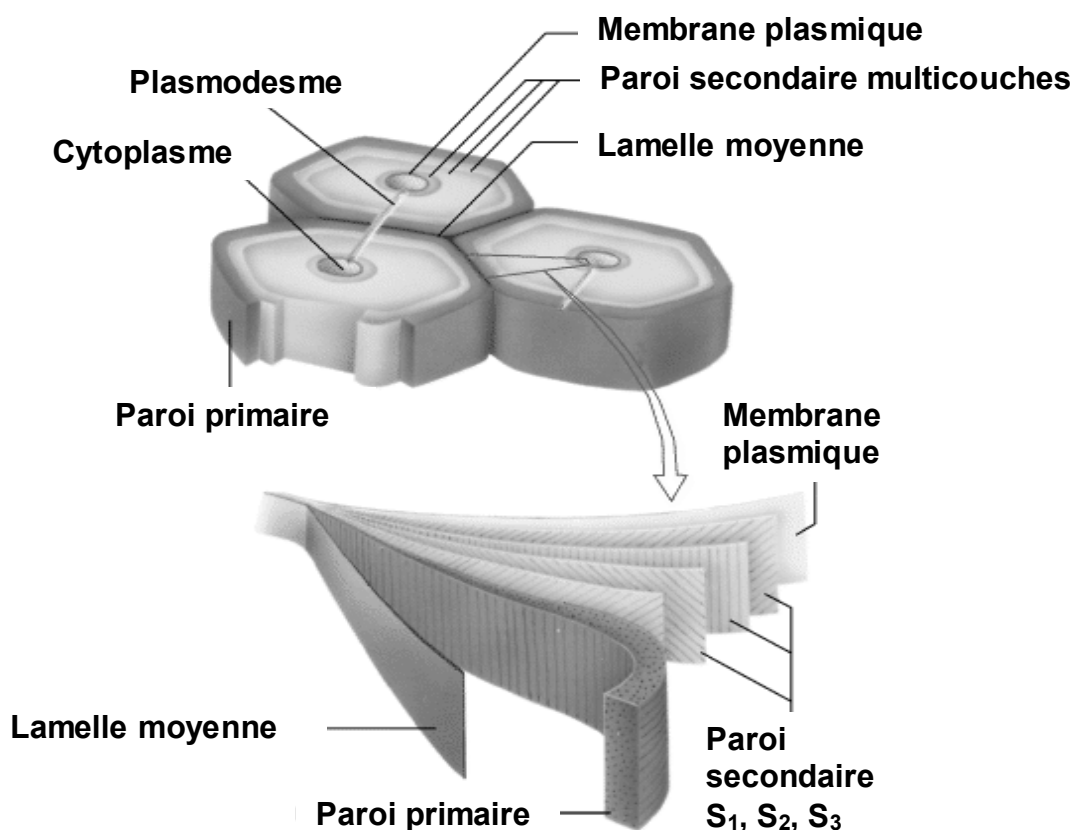


Figure I-10 : Architecture de la cellule végétale

I.3 Arabidopsis Thaliana : angiosperme dicotylé

I.3.1 Plante modèle

L'Arabidopsis Thaliana, de la famille des crucifères (brassicacées) est devenue l'organisme expérimental modèle pour les recherches sur la génétique moléculaire des plantes. Elle convient particulièrement à l'étude de la génétique classique et moléculaire par différents caractères [38] :

- Elle se développe rapidement. Il ne faut que quatre à six semaines pour obtenir des plantes adultes, dont chacune peut produire plus de 10 000 graines.
- Elle est de petite taille. Plusieurs dizaines d'individus d'Arabidopsis peuvent être cultivés dans un petit pot.
- Elle possède une grande adaptabilité. Les plantes d'Arabidopsis Thaliana se développent bien sur des milieux stériles, définis biochimiquement. De plus des plantes ont été régénérées à partir de cellules cultivées.
- Elle est autogame. Cette propriété permet d'obtenir de nouvelles mutations à l'état homozygote avec peu de difficulté. De nombreuses mutations sont visibles chez cette plante et utilisables comme marqueurs pour la confection des cartes génétiques. Ces cartes donnent une idée de la position des gènes sur les chromosomes.
- Sa susceptibilité à l'infection par la bactérie Agrobacterium tumefaciens est utilisée en génétique pour la transgénèse.
- Son génome relativement petit (5 chromosomes avec 25498 gènes) simplifie le travail d'identification et d'isolement des gènes.

II. Relation eau-polysaccharide

II.1 Sorption de l'eau dans les polymères

II.1.1 Différents phénomènes de sorption

Deux types d'interactions décrivent la sorption d'eau dans un polymère. Dans un premier temps les molécules d'eau sont adsorbées à la surface du matériau avant d'être absorbées dans le polymère. L'adsorption est un phénomène réversible d'attraction et d'adhésion de molécules de gaz sur une surface de phase différente pour former une couche extrêmement fine. L'absorption est la pénétration des molécules dans le matériau. C'est un phénomène de transport qui comprend deux mécanismes : la diffusion des molécules d'un site à un autre et la fixation de ces molécules dans des sites spécifiques. Un équilibre dynamique s'instaure entre les populations de molécules adsorbées et celles qui diffusent, de telle sorte que de nouvelles lacunes apparaissent à la surface du matériau, où l'adsorption se produit en continu et en même temps que la diffusion. Lorsque le matériau ne peut plus absorber de molécules, il atteint la saturation et les molécules peuvent alors se condenser à la surface du polymère pour former un système multicouche. D'autre part la condensation de surface peut se produire avant que le matériau soit saturé si la cinétique de diffusion est très lente devant la cinétique d'adsorption. La figure I-11 retrace les étapes de la sorption d'eau.

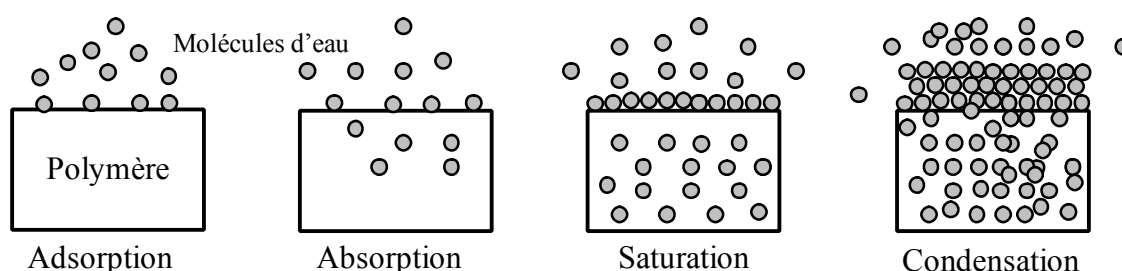


Figure I-11 : Etapes de la sorption d'eau par un polymère

II.1.2 Absorption d'eau

Il est généralement admis que l'absorption d'eau ne s'effectue que dans la phase amorphe cependant il existe deux approches différentes concernant l'absorption d'eau.

a) Approche volumétrique

La phase amorphe caractérisée par ses enchevêtrements engendre des volumes libres. D'après la théorie du volume libre de Cohen et Turnbull [39] et son adaptation de Fujita [40], l'absorption d'eau dépend de la taille et de la quantité de lacunes dans le matériau. Les molécules d'eau se déplacent d'un site à l'autre par sauts successifs, grâce à l'agitation thermique [41,42].

b) Approche moléculaire

Le polymère hydrophile possède de nombreux sites polaires. Chacun de ces sites peut se lier plusieurs fois avec une molécule d'eau par l'intermédiaire de liaisons hydrogène. La diffusion de l'eau dans le polymère se fait par sauts d'un site à l'autre mais aussi par un phénomène de piégeage / dépiégeage.

II.1.3 Diffusion de l'eau

La diffusion est le transport de matière par mouvements moléculaires aléatoires d'un point de forte concentration de matière vers un point de faible concentration à l'intérieur d'un système. La modélisation de ce phénomène a été étudié par Crank [43] puis par Fujita [40]. Le flux \vec{J} est défini par la première loi de Fick.

$$\vec{J} = -D \cdot \vec{\nabla} C \quad \text{I-1}$$

Avec D le coefficient de diffusion, C la concentration en molécules d'eau

La dépendance en temps du gradient de concentration s'exprime selon la deuxième loi de Fick.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \Delta C \quad \text{I-2}$$

Aux temps courts, une solution analytique simple décrit la diffusion de l'eau dans un polymère [44].

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{4}{L} \sqrt{\frac{Dt}{\pi}} \quad \text{I-3}$$

Où M_t et M_∞ sont respectivement la masse d'eau absorbée au temps t et à saturation, L est l'épaisseur de l'échantillon.

Cependant pour des temps longs, Roussis a mis en évidence des écarts à ce modèle pour un système vapeur d'eau/acétate de cellulose [45]. De nombreux autres modèles de diffusion ont été proposés ; ils sont récapitulés par Masaro [46].

II.2 Interaction eau-polymère

La détermination de la teneur en eau dans un polymère est basée sur sa perte de masse lors de l'augmentation de la température. Cette unique valeur macroscopique ne nous renseigne pas sur la nature de l'eau.

La littérature révèle la présence de différents types d'eau dans un polymère [47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56].

- Eau libre ou eau cristallisable : n'interagit pas avec le polymère et se comporte comme l'eau classique lors d'un changement d'état physique comme la cristallisation ou la fusion [47- 50].
- Eau liée ou eau non cristallisable : fortement liée au polymère par des liaisons hydrogène. L'eau fortement liée influence les propriétés physiques du polymère par contre celle-ci ne peut pas cristalliser comme l'eau libre [48,50,55].
- Eau faiblement liée ou eau liée cristallisable : il s'agit d'une population de molécules d'eau intermédiaire entre les deux précédentes ; les molécules d'eau seraient liées à un seul site hydrophile du polymère par une liaison hydrogène [57].

Les molécules d'eau interagissent fortement entre elles au sein des polymères. L'eau forme des agrégats (clusters d'eau) lorsque son affinité est supérieure à son affinité pour le polymère considéré. Cette situation peut se produire quand l'activité de l'eau est très élevée c'est-à-dire que la concentration en eau dans le polymère est très grande (~25%) [51] ou lorsque le polymère est hydrophobe [58,59].

Diverses techniques permettent de rendre compte du comportement du polymère en humidité. La première consiste à réaliser des isothermes de sorption de l'eau dans le matériau [56]. L'analyse de ces isothermes montre que lorsque l'on prend en compte dans le modèle de diffusion, différents types d'eau, les données expérimentales sont mieux ajustées. Cette description par les courbes de sorption est une manière approchée de tenir compte de la structure de l'eau. L'équilibre

d'hydratation d'un polymère est décrit par l'activité de l'eau mais il dépend aussi de la nature du matériau et de son influence sur la structure de l'eau.

L'analyse de la structure de l'eau dans un polymère par calorimétrie diatherme (ACD) donne des résultats intéressants. La présence d'eau libre dans un polymère se détecte facilement par cette technique puisque à 0°C ou très proche de cette valeur la transition eau solide – eau liquide se manifeste par un pic endothermique correspondant à la fusion de la glace [48, 50, 51, 55]. Hatakeyama et al. ont déterminé pour la cellulose de type I et II un seuil d'absorption d'eau à partir duquel l'eau commence à cristalliser [50]. Ce seuil de 20% dans la cellulose I (cellulose extraite des plantes) est remarquable puisqu'au-delà de cette valeur la quantité d'eau liée absorbée reste constante. La figure I-12 montre l'évolution entre la quantité d'eau liée (W_{nf}) et la teneur en eau contenue dans la cellulose I et la cellulose II. Cette figure permet de comprendre la définition d'eau liée et faiblement liée au polymère. Pour la cellulose I, à des teneurs en eau inférieure à 20% toutes les molécules d'eau sont liées au polymère. La quantité d'eau liée augmente linéairement jusqu'à 20% puis elle reste quasiment constante. Au dessus de 20% il y a coexistence entre les différents types d'eau.

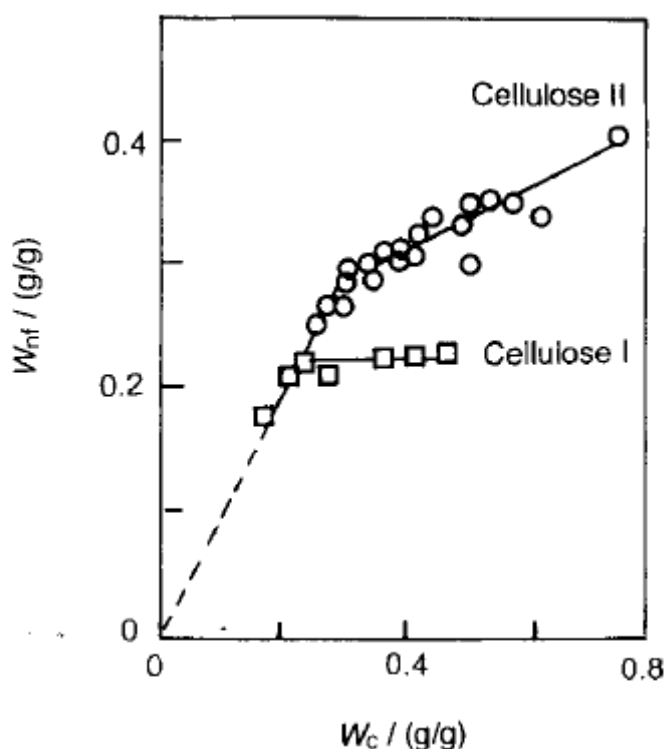


Figure I-12 : Relation entre la quantité d'eau liée (W_{nf}) et la teneur en eau (W_c) absorbée dans la cellulose I et la cellulose II [50]

En couplant l'analyse calorimétrique diatherme (ACD) avec l'analyse mécanique dynamique (AMD), Georget et al. [60] ont déterminé l'influence de l'eau sur la température de transition vitreuse T_g de la paroi végétale de carotte ainsi que sa manifestation mécanique T_α . Ils ont trouvé une T_g à 60°C pour une teneur massique en eau de 5% et $T_\alpha = 70^\circ\text{C}$. Puis toujours par AMD, ils ont montré que l'hydratation plastifie le mode α . La température T_α varie de 70°C à 55°C pour des teneurs en eau comprises entre 5 et 10% [61].

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une méthode adaptée pour différencier les types d'eau. Le spectre obtenu initialement est complexe et ne permet pas de distinguer les différents types d'eau. Cependant en appliquant à ce spectre une méthode de décomposition dans la région 2800-3800 cm^{-1} des pics élémentaires sont mis en évidence. Ces pics peuvent être attribués aux vibrations des groupements OH des différentes formes d'eau présentes dans les polymères. En s'appuyant sur les travaux antérieurs en spectroscopie vibrationnelle, il est possible d'associer l'eau liée à une bande caractéristique vers 3200 cm^{-1} et la bande vers 3600 cm^{-1} serait caractéristique de l'eau faiblement liée [51,53,54]. Cependant d'autres auteurs attribuent la bande à 3600 cm^{-1} à l'eau libre [57, 62, 63, 64, 65].

Une autre caractéristique intéressante de l'eau est sa dynamique. L'eau à l'état liquide présente une structure très labile. Les liaisons hydrogène dans l'eau liquide se font et se défont à grande vitesse, chaque molécule d'eau se réorientant environ une fois toutes les 10^{-12} s [66]. Des études de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont permis de distinguer des temps caractéristiques pour chaque type d'eau [67]. Les molécules d'eau liées ont une rotation moléculaire proche de celle de la macromolécule avec des temps de diffusion rotationnelle supérieurs à 10^{-7} s. Pour les temps intermédiaires de l'ordre de 10^{-9} s, les molécules d'eau sont alors considérées comme lentes et semblables à l'eau que l'on trouve dans les pores ou à proximité de la surface des protéines. Enfin, les temps inférieurs à 10^{-11} s sont associés à l'eau libre. Cependant une étude récente de dynamique moléculaire montre que pour des polymères qui ne prennent que quelques pourcents d'eau à saturation, les molécules d'eau sont liées au polymère et qu'il n'y a pas de molécules d'eau libre au sens propre du terme [68].

Les techniques de spectroscopies diélectriques sont particulièrement adaptées à l'étude de la dynamique de molécules polaires telles que l'eau dans les polymères hydrophiles comme les protéines ou les polysaccharides. Grâce à ces techniques les relaxations dipolaires sont révélées et nous renseignent sur la mobilité moléculaire des polymères, nous permettant de suivre l'influence de l'eau sur cette mobilité.

Différentes dynamiques de l'eau en interaction avec le polymère ont été mises en évidence par plusieurs auteurs [69,70]. Une étude en spectroscopie diélectrique micro-onde sur une solution de polysaccharide montre trois dispersions diélectriques. Ces dispersions sont associées respectivement par ordre des fréquences croissantes à un système polysaccharide/eau (~ 2 MHz), à de l'eau liée (~ 80 MHz) et à de l'eau en masse (entre 4 et 8 GHz) [71]. L'état de mobilité des molécules d'eau à proximité des protéines peut être défini par les techniques diélectriques. Une certaine population de molécules d'eau peut avoir une mobilité de rotation abaissée par rapport à l'eau en masse alors qu'une autre possède une mobilité plus élevée [72]. Quatre relaxations sont observées pour les polysaccharides comme la cellulose et leurs dérivées [73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81]. Dans l'ordre des températures croissantes, aux basses températures (entre -160°C et 0°C), le mode γ est associé à la mobilité moléculaire des groupements ($-\text{CH}_2\text{OH}$ et $-\text{OH}$) et le mode β à la mobilité des cycles de glucose. A plus hautes températures (entre 0°C et 60°C), le mode β_{wet} visible à la température ambiante n'est plus détecté après un chauffage intense. Ce mode est attribué par Einfeldt et al. [73-79] à la réorientation des complexes polymère/eau formés à l'interface polymère/eau. Le mode de relaxation α ($T > 60^{\circ}\text{C}$) est assigné à la mobilité moléculaire de séquences nanométriques de la chaîne principale. Il s'agit de la manifestation diélectrique de la transition vitreuse. Ce mode difficilement observable par spectroscopie diélectrique dynamique reste accessible par la technique des courants thermostimulés [80,81].

Chapitre II

Matériaux et Méthodes

I. Matériaux.....	46
I.1 Plante modèle et constituants majeurs.....	46
I.2 Arabidopsis Thaliana génétiquement modifiée.....	47
II. Méthodes.....	48
II.1 Caractérisation physico-chimique.....	48
II.1.1 Analyse ThermoGravimétrique couplée InfraRouge (ATG/IRTF)	48
a) Principe	48
b) Dispositif expérimental	48
c) Analyse des thermogrammes ATG	49
II.1.2 Analyse Calorimétrique Diatherme (ACD).....	50
a) Principe	50
b) Dispositif Expérimental	51
c) Analyse des thermogrammes ACD.....	51
II.2 Analyse diélectrique	52
II.2.1 Relaxation diélectrique	52
II.2.2 Origine de la polarisation.....	53
a) Approche macroscopique	53
b) Approche microscopique.....	53
c) Les différents mécanismes de polarisation.....	54
II.2.3 Dépendance en température des temps de relaxation.....	55
a) Dépendance linéaire : comportement de type Arrhenius.....	55
b) Dépendance non linéaire : comportement de type Vogel-Fulcher-Tammann.....	55
II.2.4 Spectroscopie Diélectrique Dynamique (SDD).....	56
a) Principe	56
b) Dispositif expérimental	57
c) Analyse des spectres	57
II.2.5 Courant thermostimulé (CTS).....	60
a) Principe	60
b) Dispositif expérimental	61
c) Analyse des thermogrammes.....	62
III. Protocole d'hydratation d'un polymère cellulosique	67
III.1 Utilisation de solutions salines saturées.....	67
III.2 Utilisation de l'humidité relative ambiante	67
III.3 Calcul du taux d'hygrométrie.....	68

I. Matériaux

Une plante est un matériau végétal composite constitué majoritairement de trois macromolécules : la cellulose, la lignine et l'hémicellulose. Les constituants structuraux majoritaires de la paroi végétale sont la cellulose et la lignine. La détermination des propriétés physiques de la plante naturelle ou modifiée implique l'étude préalable de ces constituants.

I.1 Plante modèle et constituants majoritaires

L'*Arabidopsis Thaliana*, de nom commun « Arabette des Dames », est une plante de la famille des crucifères. Elle est utilisée comme plante modèle par les généticiens en raison de sa croissance rapide, sa facilité de culture en laboratoire et du séquençage complet de son génome. Elle possède le plus petit génome végétal connu (5 chromosomes avec 25498 gènes). La stratégie des généticiens est de focaliser les recherches sur une plante possédant le plus petit génome possible, afin de pouvoir l'analyser, puis d'utiliser des informations acquises pour amorcer l'exploration de génomes plus complexes. En effet, la comparaison de génomes de différentes espèces de végétaux peut se faire car il existe des similitudes entre eux.

Les constituants étudiés fournis par Sigma - Aldrich sont la cellulose et la lignine. La cellulose extraite de la fleur de coton est sous forme de poudre blanche microcristalline (granulométrie de 20 μm). Des fibres issues d'une fleur de coton sont aussi étudiées. La lignine utilisée est également sous forme de poudre de couleur marron extraite de la canne à sucre. Afin d'optimiser les résultats expérimentaux, les poudres (cellulose ou lignine) sont mises sous forme de pastille en appliquant une pression de 75 MPa.

I.2 *Arabidopsis Thaliana* génétiquement modifiée

Les différentes modifications faites sur le patrimoine génétique de l'*Arabidopsis Thaliana* sont impliquées dans la biosynthèse de la lignine. Toutes les modifications génétiques effectuées tendent à diminuer l'expression des gènes ciblés excepté pour le gène F5H. Les échantillons étudiés sous forme de poudre sont obtenus par broyage des plantes à l'aide d'un broyeur de type Danguomeau. Chaque échantillon a subi une des modifications génétiques suivantes :

- DML6 : la modification du gène COMT 1 joue sur l'activité de l'enzyme « Caffeate /5-hydroxyferulate O-MethylTransferase » impliquée dans la méthylation des précurseurs de l'alcool sinapylique (un des monomères de la lignine) et conduit dans toutes les espèces examinées à une diminution des unités « syringyl » codées « S » et à la production des unités inhabituelles « 5-hydroxyguaiacyl » (5-OH-G) [82, 83, 84, 85].
- EBL 87 : la surexpression du gène F5 H1 augmente la proportion d'unité S dans la lignine de l'*Arabidopsis Thaliana*. Ce gène régule l'enzyme « ferulate 5-hydroxylase » dans la synthèse d'unité S [83, 84, 86, 87].
- CAD C/D : la double mutation C et D sur le gène CAD influence la dernière étape de synthèse des monomères de la lignine (alcool coumarylique, alcool coniférylique et alcool sinapylique) en réduisant la proportion des unités S et « guaiacyl » codées G au profit des aldéhydes sinapaldéhyde et coniféraldéhyde [83, 84, 88, 89].

Les trois modifications du patrimoine génétique de la plante ont été réalisées par l'équipe de Génomique fonctionnelle de l'Eucalyptus au Laboratoire de Recherche en Sciences Végétales (LRSV), UMR CNRS/UPS 5546 à Toulouse selon la stratégie dite des ARN antisens.

L'échantillon témoin, nommé « sauvage », est issu de plantes naturelles. Celles-ci sont cultivées séparément mais dans les mêmes conditions que les plantes mutantes : i.e. dans des salles sous atmosphère contrôlée totalement isolées de l'extérieur.

II. Méthodes

Dans le cadre de cette étude, les techniques de caractérisation physico-chimique utilisées pour déterminer la stabilité thermique et la structure physique des matériaux sont l'Analyse Thermogravimétrique couplée avec un analyseur infrarouge d'effluents (ATG/IRTF) et l'Analyse Calorimétrique Diatherme Passive (ACD). La dynamique macromoléculaire des différents échantillons est étudiée par les techniques d'analyse diélectrique statique (Courants ThermoStimulés CTS) et dynamique (Spectroscopie Diélectrique Dynamique SDD). Pour chaque méthode, un principe succinct est décrit avant de détailler le dispositif expérimental et l'analyse des thermogrammes.

II.1 Caractérisation physico-chimique

II.1.1 Analyse ThermoGravimétrique couplée Infrarouge (ATG/IRTF)

a) Principe

L'analyse thermogravimétrique permet de suivre finement l'évolution de la masse de l'échantillon lors d'une montée linéaire en température sous atmosphère contrôlée. Cette méthode nous renseigne sur la stabilité thermique des matériaux. Elle permet de déterminer le pourcentage d'hydratation de l'échantillon. Le couplage du four d'ATG à un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) permet d'identifier les effluents gazeux en temps réel lors de la montée en température. Cette technique permet la détection des produits volatils liés à une désorption (eau, solvants) et/ou à une dégradation.

b) Dispositif expérimental

Les mesures sont réalisées avec le module TGA Q50, connecté à un spectromètre Nicolet 5700 FTIR commercialisé par TA instruments. Une masse de 5 à 20 mg d'échantillon est déposée dans une coupelle en alumine. Une microbalance de précision pèse cette masse sous un flux gazeux inerte d'azote pour s'affranchir des phases d'oxydation. La vitesse de montée en température est généralement de 10°C/min de la température ambiante jusqu'à 1000°C au maximum. Le four d'ATG est relié au spectromètre par une ligne de transfert à une température de 225°C qui

conduit les effluents gazeux à la cellule d'analyse chauffée à 250°C en évitant le phénomène de condensation.

c) Analyse des thermogrammes ATG

Le pourcentage de masse ainsi que la dérivée de la masse par rapport à la température sont représentés en fonction de la température. Selon les échantillons, nous pouvons observer sur ces thermogrammes un départ d'eau, une dénaturation ou une dégradation. Ces phénomènes sont observés sous forme d'une sigmoïde sur le signal du pourcentage de masse, et d'un pic sur le signal de la dérivée. La figure II-1 représente les thermogrammes ATG de la cellulose où nous pouvons observer deux événements, qui sont respectivement dans le sens des températures croissantes un départ d'eau et une dégradation.

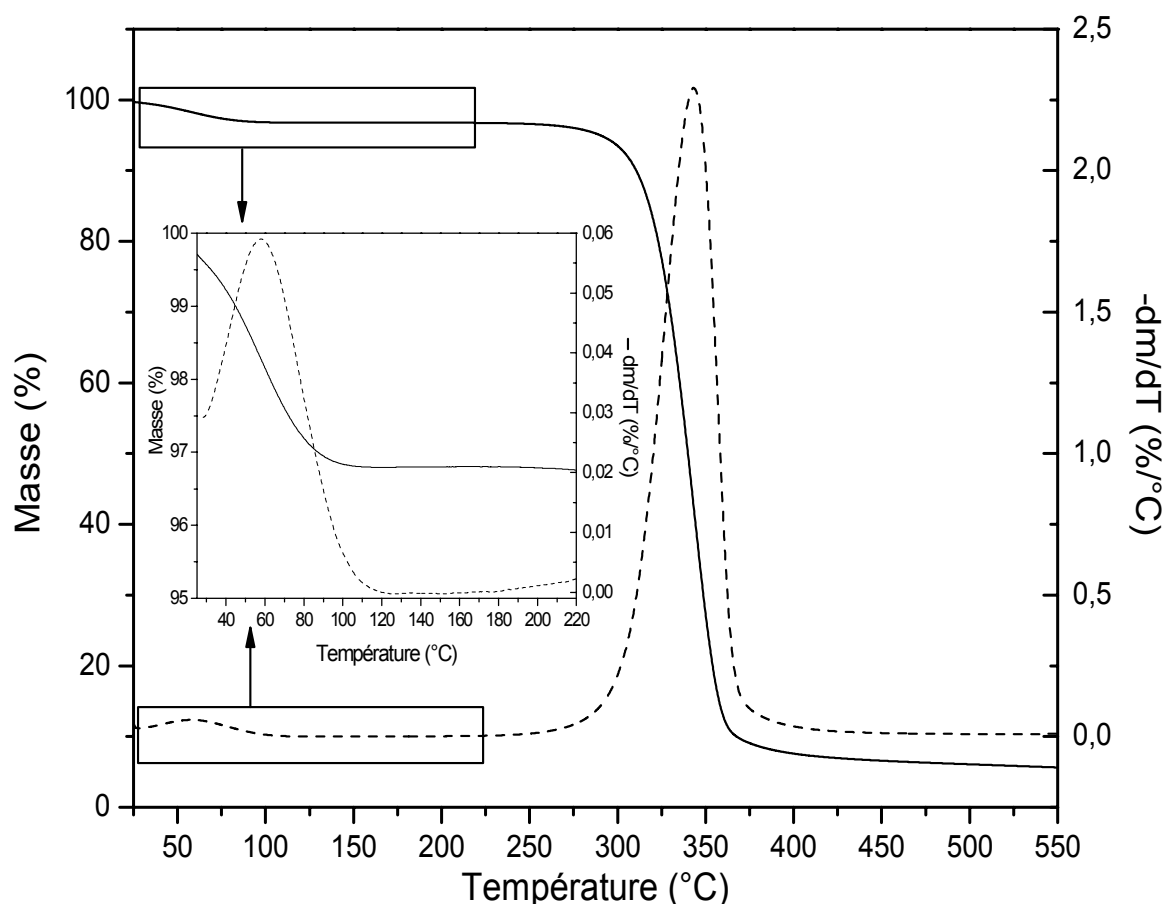


Figure II-1 : Thermogramme d'ATG de la cellulose [—] et sa dérivée [---]

Au point d'inflexion de la perte de masse ou au maximum du pic sur le signal de la dérivée, nous pouvons associer en temps réel un spectre infrarouge. Une information

sur la nature chimique du produit volatil dégagé correspondant au phénomène observé en ATG est apportée.

L'énergie d'activation de la dégradation peut être déterminée en appliquant la méthode de Broido [90]:

$$\ln(-\ln(1-\alpha)) = K - \frac{\Delta E}{RT} \quad \text{II-1}$$

$$\alpha = \frac{m_0 - m}{m_0 - m_\infty} \quad \text{II-2}$$

Où K est une constante, m_0 est la masse avant la dégradation et m_∞ la masse finale de l'échantillon.

Cette méthode graphique consiste à analyser le comportement de matériaux à la dégradation. Elle a été appliquée la première fois sur la cellulose et suppose que la pyrolyse de ce polymère est une réaction du premier ordre. L'autre hypothèse consiste à écrire l'équation II-1 qui lie la masse de l'échantillon (Equation II-2) à l'énergie d'activation ΔE . Le graphique obtenu, $\ln[-\ln(1-\alpha)]$ en fonction de $1/T$, comporte une partie linéaire au niveau de la dégradation du matériau. Cette partie linéaire a pour pente l'énergie d'activation de la dégradation. Cette méthode est intéressante puisqu'elle nous permet de connaître l'influence de la morphologie ou de l'échantillonnage sur le comportement thermique du polymère.

II.1.2 Analyse Calorimétrique Diatherme Passive (ACD)

a) Principe

Cette technique permet de déterminer la différence de flux de chaleur entre la référence et l'échantillon en mesurant le gradient de température lors d'un balayage linéaire en température. La différence de flux de chaleur est directement proportionnelle à la différence de température.

$$\Delta Q = \frac{1}{R_D} \cdot \Delta T \quad \text{II-3}$$

Où ΔQ est la différence de flux de chaleur, ΔT la différence de température entre la référence et l'échantillon et R_D la résistance thermique due à l'appareil.

b) Dispositif Expérimental

L'appareil utilisé est le calorimètre DSC/MDSC 2920 commercialisé par TA Instruments équipé du système de refroidissement par azote liquide LNCA (Liquid Nitrogen Cooling Accessory). Il est constitué d'un four, régulé en température, possédant deux plots. Sur l'un des plots est placée la coupelle contenant l'échantillon sur l'autre la référence (une coupelle vide). L'échantillon de masse comprise entre 5 et 15 mg est serti dans une coupelle en aluminium non hermétique. La gamme de température accessible s'étend de - 150 à 500°C avec une vitesse de balayage évoluant de 5 à 20°C/min. L'appareil est calibré en température grâce aux températures de fusion du mercure ($T_m = -38,83^\circ\text{C}$), de l'indium ($T_m = 156,60^\circ\text{C}$) et de l'étain ($T_m = 231,93^\circ\text{C}$). Le flux de chaleur est calibré avec l'une des enthalpies de fusion mercure ($\Delta H = 11,44 \text{ J/g}$), indium ($\Delta H = 28,71 \text{ J/g}$) ou étain ($\Delta H = 60,60 \text{ J/g}$). Les mesures sont réalisées sous atmosphère inerte d'hélium.

c) Analyse des thermogrammes ACD

Deux types de transition thermique sont généralement observés pour les polymères. Selon la classification d'Ehrenfest [91], les transitions du premier ordre présentent une discontinuité de la dérivée première de l'enthalpie et se caractérisent par un pic endothermique (fusion) ou exothermique (cristallisation). Les transitions du second ordre ou pseudo second ordre, telle que la transition vitreuse, présentent une discontinuité de la dérivée seconde de l'enthalpie, se caractérisant par un saut de capacité calorifique. A titre d'exemple, la figure II-2 représente le thermogramme ACD de la cellulose issue de la fleur de coton.

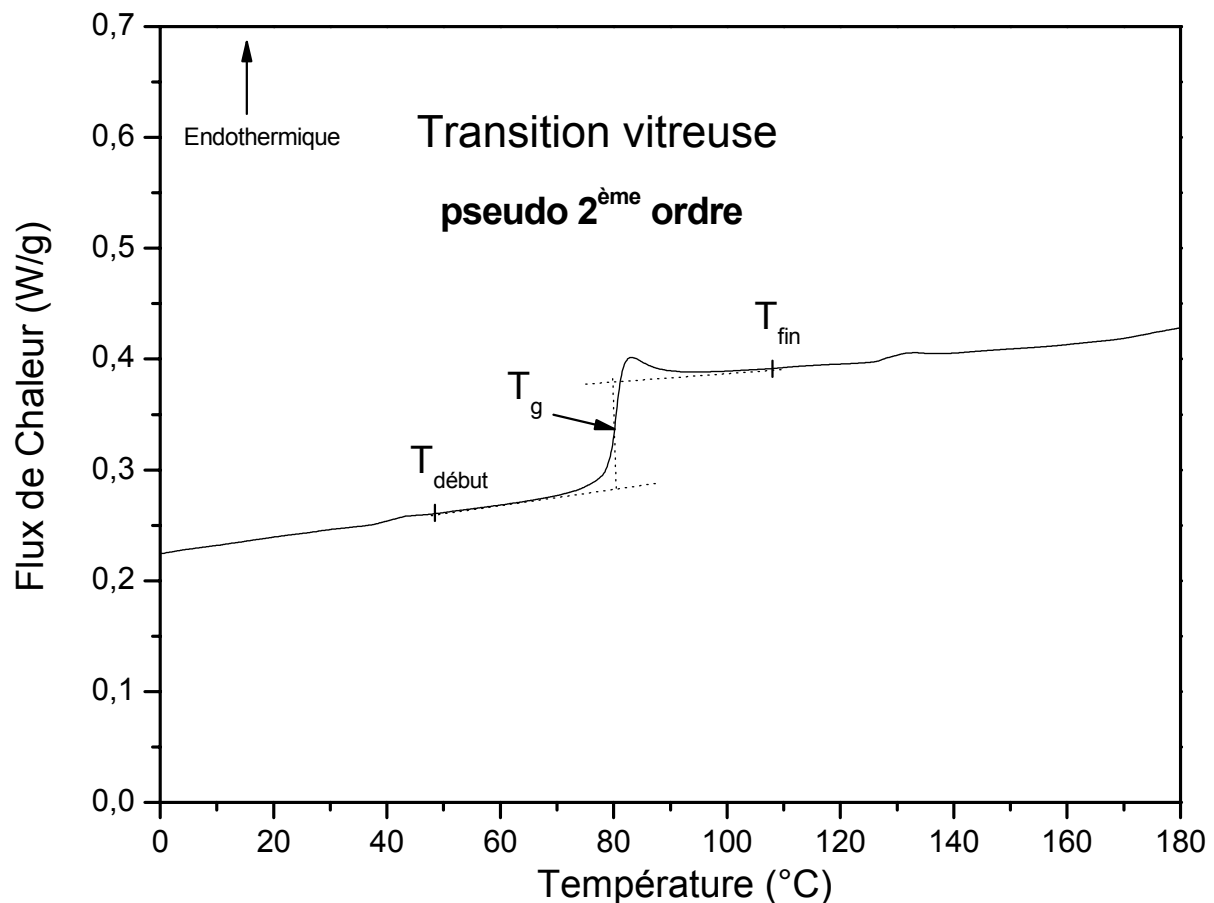


Figure II-2 : Thermogramme ACD de la cellulose au deuxième balayage à 20°C/min

Dans cette étude les températures de transition vitreuse sont déterminées au point d'inflexion du saut de capacité calorifique.

II.2 Analyse diélectrique

II.2.1 Relaxation diélectrique

Un matériau diélectrique est un matériau susceptible d'acquérir un moment dipolaire sous l'application d'un champ électrique. Les dipôles contenus dans le matériau tendent à s'orienter préférentiellement dans la direction du champ appliqué. Lors de la suppression de ce champ, les dipôles du matériau reviennent à leur état initial. Ce retour à l'équilibre thermodynamique de l'ensemble des dipôles du matériau est appelé relaxation diélectrique.

II.2.2 Origine de la polarisation

a) Approche macroscopique

La capacité C_0 d'un condensateur plan dans le vide est déterminée à partir des grandeurs géométriques (surface S , épaisseur e) et de la permittivité diélectrique du vide ε_0 :

$$C_0 = \frac{\varepsilon_0 \cdot S}{e} \quad \text{II-4}$$

En remplaçant l'espace vide par un matériau diélectrique, la capacité du condensateur est multipliée par un facteur ε_r sans dimension appelé permittivité diélectrique relative. Son expression est donnée par la relation :

$$C = \frac{\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0 \cdot S}{e} \quad \text{II-5}$$

L'augmentation de la capacité du matériau est liée à l'aptitude du matériau à stocker de l'énergie sous un champ extérieur. D'un point de vue macroscopique, la polarisation d'un matériau diélectrique est reliée au champ électrique.

$$\vec{P} = \varepsilon_0 (\varepsilon_r - 1) \vec{E} \quad \text{II-6}$$

b) Approche microscopique

Le champ électrique appliqué aux bornes du condensateur est différent du champ agissant sur les entités polaires qui composent le matériau diélectrique. Le champ local appliqué sur une entité polaire est la somme du champ électrique extérieur appliqué et des champs créés par les dipôles des entités à proximité.

Dans le cas des matériaux uniformément polarisés Lorentz a exprimé ce champ local en termes de grandeurs macroscopiques :

$$\vec{E}_{loc} = \vec{E} + \frac{\vec{P}}{3\varepsilon_0} \quad \text{II-7}$$

La polarisation macroscopique est la résultante de l'orientation à l'échelle locale des moments dipolaires permanents ou induits \vec{p}_i .

$$\vec{p}_i = \alpha_i \cdot \vec{E}_{local} \quad \text{II-8}$$

$$\vec{p}_i = \sum_i N_i \vec{p}_i \quad \text{II-9}$$

Avec α_i la polarisabilité de l'entité mobile i , \vec{p}_i la polarisation macroscopique résultante qui est la somme des moments dipolaires de chaque entité et de leur densité volumique N_i .

c) Les différents mécanismes de polarisation

La polarisation totale d'un matériau diélectrique est la somme de plusieurs contributions. Chacune de ces contributions a un temps d'établissement t qui lui est propre.

- La polarisation électronique provient de la déformation du nuage électronique entourant chaque atome sous l'effet d'un champ électrique ($t \sim 10^{-15}$ s).
- La polarisation atomique est due à un déplacement des électrons des liaisons covalentes dans le cas de matériaux constitués d'atomes de différentes électronégativités ($t \sim 10^{-12}$ s - 10^{-11} s).
- La polarisation d'orientation ou dipolaire est liée à l'orientation des moments dipolaires permanents du matériau ($t \sim 10^{-9}$ - 10^5 s).
- La polarisation de type Maxwell-Wagner-Sillars se manifeste dans les milieux hétérogènes où les différents constituants du matériau ont des permittivités différentes. Les charges s'accumulent aux interfaces sous l'application du champ électrique ($t > 10^3$ s).
- La polarisation de charges d'espace est associée à la présence de charges libres en excès à la surface du matériau ($t > 10^3$ s).

Pour un temps d'établissement long $t > 10^3$ s, un phénomène de conduction peut se produire. Des charges électriques peuvent traverser le matériau, donnant naissance à un très faible courant. Celui-ci nuit à la détection des relaxations dipolaires à haute température et à basse fréquence. Dans cette étude nous nous intéressons à la polarisation dipolaire pour obtenir des informations sur la dynamique des chaînes et la nature des entités dipolaires impliquées.

II.2.3 Dépendance en température des temps de relaxation

Dans les polymères, les temps de relaxation traduisent la mobilité des entités dipolaires. Ils sont dépendants de la nature de ces entités mais aussi de la température. Lorsque la température augmente la taille des entités relaxantes sollicitées augmente également. Deux comportements sont généralement observés suivant que l'évolution du logarithme du temps de relaxation en fonction de l'inverse de la température a une tendance linéaire ou non linéaire.

a) Dépendance linéaire : comportement de type Arrhenius

Ce comportement est souvent caractéristique des relaxations des états vitreux et cristallins, associées à des entités de faible dimension. La dépendance en température des temps de relaxation obéit à l'équation [92]:

$$\tau = \tau_0 \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad \text{II-10}$$

où E_a est l'énergie d'activation, R la constante des gaz parfaits et τ_0 le facteur pré-exponentiel.

La théorie des barrières prévoit ce type de comportement et avec la relation d'Eyring [92], elle permet de déduire de τ_0 , l'entropie d'activation ΔS :

$$\tau_0 = \frac{h}{k_B \cdot T} \exp\left(-\frac{\Delta S}{R}\right) \quad \text{II-11}$$

Où h est la constante de Planck et k_B la constante de Boltzmann.

b) Dépendance non linéaire : comportement de type Vogel-Fulcher-Tammann

Pour l'état liquide, la dépendance en température des temps de relaxation s'écarte du comportement de type Arrhenius ; il est alors décrit par l'équation de

Vogel -Fulcher-Tammann : $\tau(T) = \tau_0 \exp\left(\frac{B}{T - T_0}\right)$ II-12

Où τ_0 est le facteur pré-exponentiel, B et T_0 deux constantes homogènes à une température.

Ce comportement a été observé à partir d'une approche phénoménologique [93]. Par analogie avec la relaxation mécanique, Ferry a établi une équivalence empirique temps-température appelée le facteur de déplacement. Cette équivalence permet par extrapolation de déterminer un temps de relaxation. Williams, Landel et

Ferry [94] ont montré que, dans la gamme de température comprise entre T_g et $T_g + 100^\circ\text{C}$, le facteur de déplacement dépend de la température selon l'équation WLF qui correspond à un temps de relaxation obéissant à l'équation de VFT.

II.2.4 Spectroscopie Diélectrique Dynamique (SDD)

a) Principe

Le principe de la Spectroscopie Diélectrique Dynamique consiste à stimuler un échantillon par une tension harmonique et à mesurer l'impédance résultante du matériau. L'échantillon, placé entre deux électrodes, est soumis à une tension électrique sinusoïdale $U^*(\omega)$, de faible amplitude U_0 et de pulsation $\omega = 2\pi f$.

$$U^*(\omega) = U_0 e^{i(\omega t)} \quad \text{II-13}$$

Cette tension induit un courant $I^*(\omega)$ de pulsation ω identique à la tension mais déphasé. Le matériau étudié n'étant pas un diélectrique parfait, le déphasage φ entre U^* et I^* est différent de $\pi/2$.

$$I^*(\omega) = I_0 e^{i(\omega t + \varphi)} \quad \text{II-14}$$

L'écart de comportement de l'échantillon par rapport à un comportement purement capacitif est quantifié par l'angle de perte $\delta = \pi/2 - \varphi$. L'impédance complexe est donnée par le rapport de ces deux grandeurs :

$$Z^*(\omega) = \frac{U^*(\omega)}{I^*(\omega)} \quad \text{II-15}$$

L'impédance contient l'information sur la réponse diélectrique du matériau. Elle ne dépend que de la géométrie (épaisseur e , surface S) et des propriétés diélectriques intrinsèques du matériau. Dans cette étude, la permittivité complexe de l'échantillon est déduite grâce à l'impédance complexe par la relation :

$$\varepsilon^*(\omega) = \frac{C(\omega)^*}{C_0} = \frac{1}{i\omega C_0 Z^*(\omega)} = \varepsilon' - i\varepsilon'' \quad \text{II-16}$$

Avec C_0 la capacité d'un condensateur plan dans le vide :

$$C_0 = \frac{\varepsilon_0 S}{e} \quad \text{II-17}$$

$$\text{Et } \tan \delta = \tan\left(\frac{\pi}{2} - \varphi\right) = \frac{Z'(\omega)}{Z''(\omega)} = \frac{\varepsilon''(\omega)}{\varepsilon'(\omega)} \quad \text{II-18}$$

b) Dispositif expérimental

Les mesures diélectriques dynamiques sont effectuées par un spectromètre Novocontrol associé à un analyseur d'impédance Solartron. La température est contrôlée par un système de régulation utilisant un flux d'azote chauffé à la température souhaitée. La gamme de fréquence accessible est de $[10^{-4} - 3.10^6]$ Hz et la température peut être régulée entre -170°C et 300°C . La tension variable appliquée a une amplitude qui optimise le rapport signal sur bruit. L'échantillon étudié doit être de géométrie circulaire pour éviter les effets de bords et d'épaisseur fine (< 1 mm). Dans le cadre de cette étude, l'échantillon est un disque de diamètre 8 mm et d'épaisseur de 0,5 mm.

c) Analyse des spectres

La permittivité diélectrique complexe ϵ^* est déterminée en faisant varier la fréquence du champ électrique entre $[10^{-1}$ et $10^6]$ Hz selon des isothermes comprises entre -160 à 200°C évoluant par pas de 5°C . L'ensemble des données enregistrées dans un large domaine de température et de fréquence peut être représenté sous la forme d'une carte tridimensionnelle permettant la visualisation des différents phénomènes de relaxation, caractéristiques de l'échantillon analysé. L'évolution de la partie imaginaire de la permittivité diélectrique complexe de la cellulose, figure II-3, est présentée à titre d'exemple pour un taux d'hydratation de 5%.

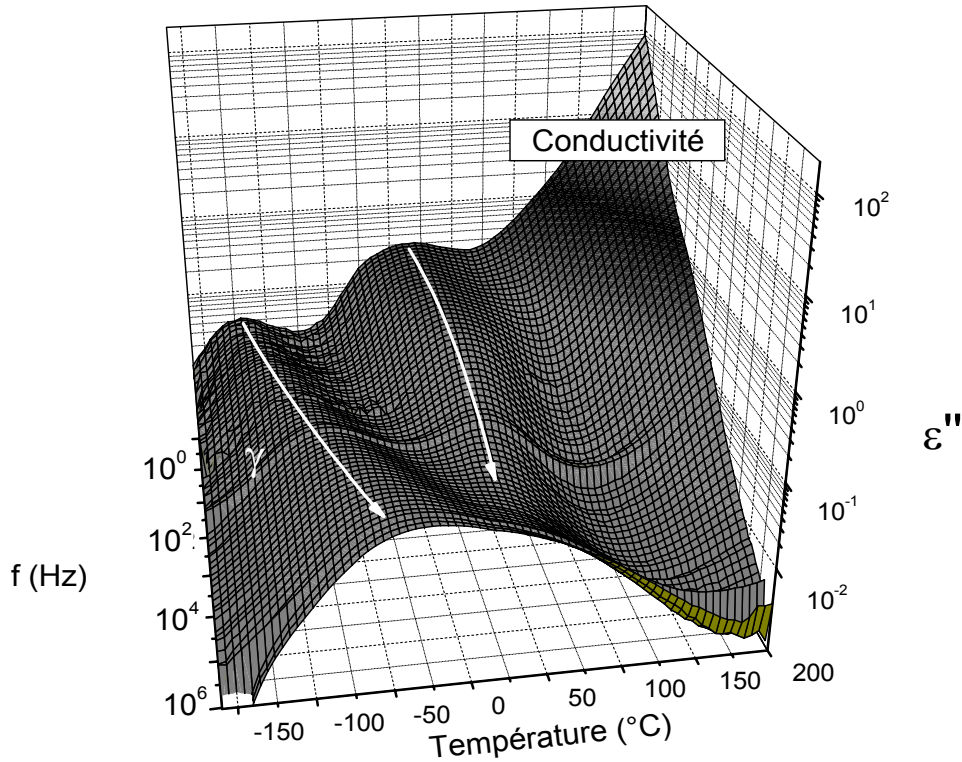


Figure II-3 : Représentation tridimensionnelle de la partie imaginaire de la permittivité complexe de la cellulose pour un taux d'hydratation de 5 %

L'analyse de la permittivité diélectrique s'effectue à l'aide de lois empiriques qui décrivent, pour chaque isotherme, le retour à l'équilibre du système sollicité. Dans le cas des polymères, les résultats expérimentaux sont bien ajustés analytiquement par l'équation d'Havriliak Negami (HN) [95,96].

$$\varepsilon_{HN}^*(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_{\infty})}{(1 + (i\omega\tau_{HN})^{\alpha_{HN}})^{\beta_{HN}}} \quad \text{II-19}$$

Où ε_{∞} est la permittivité relative à fréquence infinie, ε_s la permittivité statique, τ_{HN} le temps de relaxation, α_{HN} et β_{HN} les paramètres d'ajustement qui prennent en compte respectivement la largeur et la dissymétrie de la distribution des temps de relaxation (α_{HN} , β_{HN} varient entre 0 et 1).

L'équation de Debye en est un cas particulier ($\alpha_{HN} = \beta_{HN} = 1$) comme les équations de Cole-Cole ($\beta_{HN} = 1$) [97] et Cole-Davidson ($\alpha_{HN} = 1$) [98,99]

Dans certains cas, plusieurs modes de relaxation répondent dans une même gamme de fréquence et de température; leurs réponses s'additionnent. Il est

nécessaire d'ajuster les spectres correspondant par une somme de fonctions d'Havriliak Negami. Un phénomène de conductivité électrique peut être observé sur les spectres à basse fréquence et haute température.

L'équation générale de la permittivité complexe prenant en compte la conductivité électrique de l'échantillon devient alors :

$$\varepsilon_{HN}^*(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \sum_{i=1}^n \left[\frac{\Delta\varepsilon}{\left(1 + (i\omega\tau_{HN})^{\alpha_{HN}}\right)^{\beta_{HN}}} \right] + \frac{\sigma_0}{i\varepsilon_0\omega} \quad \text{II-20}$$

Où $\Delta\varepsilon = \varepsilon_s - \varepsilon_{\infty}$, n est le nombre de modes de relaxation, σ_0 la conductivité statique du matériau.

La conductivité et les phénomènes interfaciaux peuvent masquer les relaxations diélectriques du matériau. Il faut alors utiliser le module diélectrique $M^*(\omega)$ [100] :

$$M^*(\omega) = \frac{1}{\varepsilon^*(\omega)} \quad \text{II-21}$$

La conductivité et les relaxations de type MWS ne sont plus observées comme des fronts mais comme des pics bien définis.

L'autre possibilité pour s'affranchir de la composante de conduction ohmique est d'utiliser la transformation numérique de Kramers-Kronig pour le calcul de la partie imaginaire de la permittivité diélectrique $\varepsilon''(\omega)$ [101]. La relation de Kramers-Kronig lie la partie réelle $\varepsilon'(\omega)$, qui ne présente aucune manifestation de la conductivité, avec la partie imaginaire $\varepsilon''(\omega)$ de la permittivité diélectrique.

$$\varepsilon''_{KK}(\omega_0) = \frac{\sigma_0}{\varepsilon_0 \cdot \omega_0} + \frac{2}{\pi} \cdot \int_0^{\infty} \varepsilon'(\omega) \cdot \left[\frac{\omega_0}{\omega^2 - \omega_0^2} \right] \cdot d\omega \quad \text{II-22}$$

Les relaxations dipolaires obtenues après le calcul sont analysées comme celles obtenues expérimentalement par l'équation d'Havriliak Negami.

II.2.5 Courant thermostimulé (CTS)

a) Principe

Cette technique, mise au point par Bucci et al. en 1964 [102], permet de caractériser la structure d'un matériau complexe par l'analyse des relaxations dipolaires présentes dans le matériau. La faible fréquence équivalente (10^{-3} - 10^{-4} Hz) fait de cette technique une méthode très sensible et adaptée à l'étude de la mobilité moléculaire dans les polymères. Il existe deux protocoles expérimentaux. Le premier consiste à enregistrer une réponse globale de l'échantillon avec des thermogrammes complexes. Le second, appelé polarisation fractionnée, donne accès à la structure fine des modes de relaxation, avec une série discrète de thermogrammes élémentaires.

- *Thermogrammes complexes*

L'échantillon est porté à une température T_p et un champ électrique continu E_p est appliqué pendant un temps t_p (2 min). Ce protocole permet d'orienter les dipôles du matériau préférentiellement dans la direction du champ électrique. Pour figer cette configuration, une descente rapide en température est réalisée jusqu'à T_0 . L'échantillon est alors court-circuité pendant un temps t_0 (2 min) pour évacuer les charges de surface piégées au cours de la polarisation. Au cours d'une montée linéaire en température q ($7^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$), l'appareil enregistre le courant de dépolarisation du polymère généré par le retour à l'équilibre des entités dipolaires.

- *Thermogrammes élémentaires*

La méthode des polarisations fractionnées décompose expérimentalement le thermogramme CTS complexe en une série discrète de thermogrammes élémentaires.

Le champ électrique E_p est appliqué sur l'échantillon à la température de polarisation T_p pendant un temps t_p (2 min). Les entités dipolaires dont le temps de relaxation $\tau(T_p)$ est inférieur à t_p peuvent s'orienter dans la direction préférentielle du champ E_p . L'échantillon est refroidi jusqu'à T_d tel que $T_p - T_d = 5^\circ\text{C}$. Cette différence de température est la fenêtre optimale de polarisation [103]. La suppression du

champ électrique pendant une durée t_d (2min) permet le retour à l'équilibre des dipôles dont le temps de relaxation $\tau(T_d)$ est inférieur à t_d . L'échantillon est ensuite refroidi rapidement jusqu'à la température T_0 , très inférieure à T_p et à T_d et le protocole précédent d'enregistrement des thermogrammes est appliqué.

b) Dispositif expérimental

L'échantillon est placé entre deux électrodes dans un cryostat. Celui-ci est constitué de trois parties indépendantes. L'enveloppe extérieure est maintenue sous vide secondaire ($5 \cdot 10^{-4}$ Pa). L'enveloppe interne contient l'azote liquide et la partie contenant l'échantillon est remplie d'hélium gazeux afin de créer une atmosphère inerte. L'hélium étant un bon gaz caloporteur il permet d'assurer une homogénéité thermique dans l'enceinte. La régulation en température est assurée par un flux d'azote et des résistances chauffantes reliées à une alimentation de puissance. La gamme de température accessible s'étend de -180°C à 200°C . Une sonde platine placée à proximité de l'échantillon permet de mesurer sa température. La mesure du courant de dépolarisation est réalisée à l'aide d'un ampèremètre Keithley d'une sensibilité de 10^{-16} A.

c) Analyse des thermogrammes

Les relaxations observées dans les polymères se manifestent par des pics larges et asymétriques. La figure II-4 présente le résultat de la résolution expérimentale du thermogramme complexe de la cellulose à basse température en thermogrammes élémentaires, pour un taux d'hydratation nul de l'échantillon ($h = 0\%$). Chaque thermogramme élémentaire se traduit par un pic fin dans l'hypothèse d'un processus à un seul temps de relaxation de type Debye [102,104]. Les profils des thermogrammes complexes peuvent ensuite être ajustés par des fonctions gaussiennes pour distinguer la contribution des deux modes de relaxation.

Les résultats expérimentaux sont normalisés et le paramètre représenté σ , homogène à une conductivité, est le rapport du courant de dépolarisation I par le produit surface de l'échantillon S et champ électrique appliqué E .

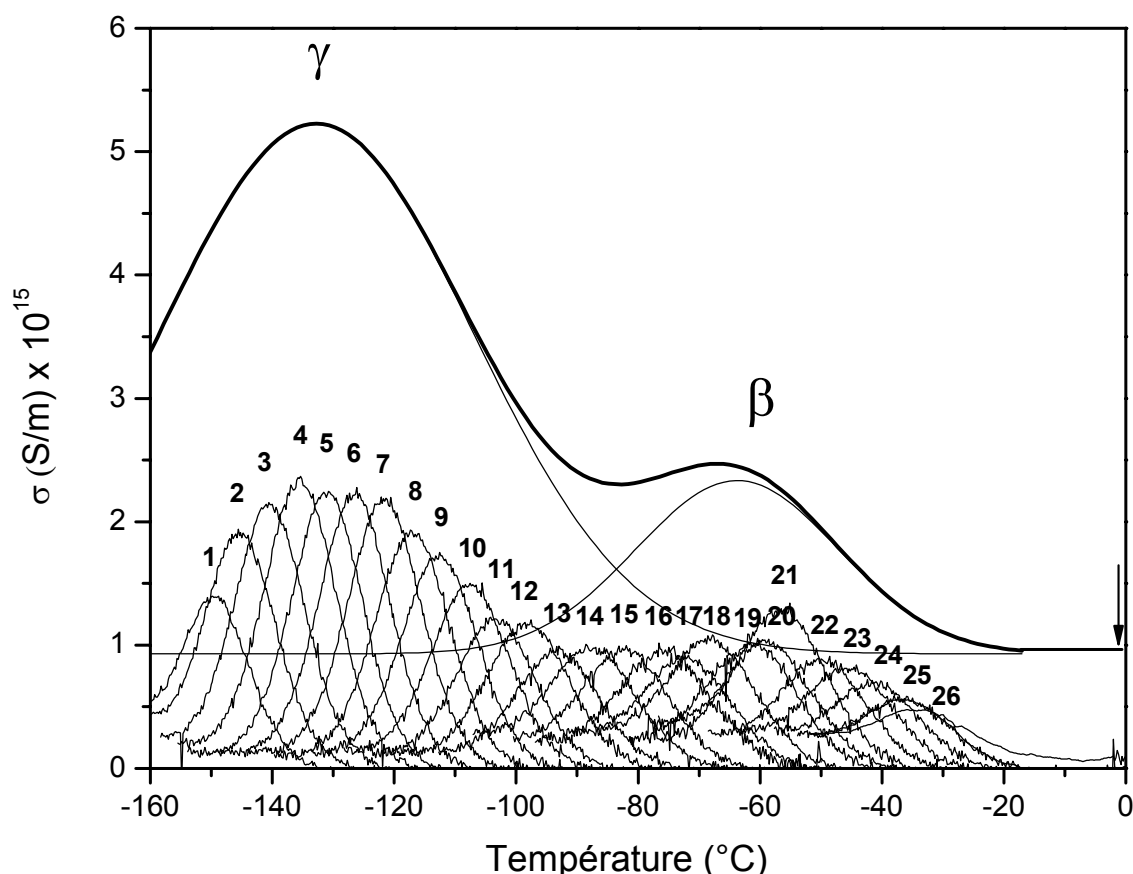


Figure II-4 : Résolution expérimentale des modes basses températures de la cellulose

- Critère de coopérativité de Starkweather

Afin de rendre compte de la coopérativité d'un mode de relaxation, Starkweather [105,106,107] utilise la déviation des valeurs d'enthalpie d'activation mesurées par rapport à l'enthalpie d'activation à entropie nulle. L'enthalpie ΔH_n est composée de 2 termes : l'enthalpie d'activation théorique associée à une entropie d'activation nulle ΔH_n ($\Delta S=0$) et le terme purement entropique de l'enthalpie d'activation $T\Delta S_n$.

$$\Delta H_n = RT \left[1 + \ln \left(\frac{k_B T}{2\pi \cdot h \cdot f} \right) \right] + T\Delta S_n \quad \text{II-23}$$

$$\Delta H_n = \Delta H_n(\Delta S = 0) + T\Delta S_n \quad \text{II-24}$$

Avec f , fréquence de sollicitation et $\Delta H_n(\Delta S=0)$ « droite » de Starkweather

Une relaxation est définie comme non coopérative si les valeurs de l'enthalpie d'activation ΔH_n sont proches de celles de la droite d'entropie d'activation nulle $\Delta H_n(\Delta S=0)$. Elle sera coopérative lorsque les valeurs de ΔH_n s'écartent significativement de la « droite » de Starkweather (figure II-5).

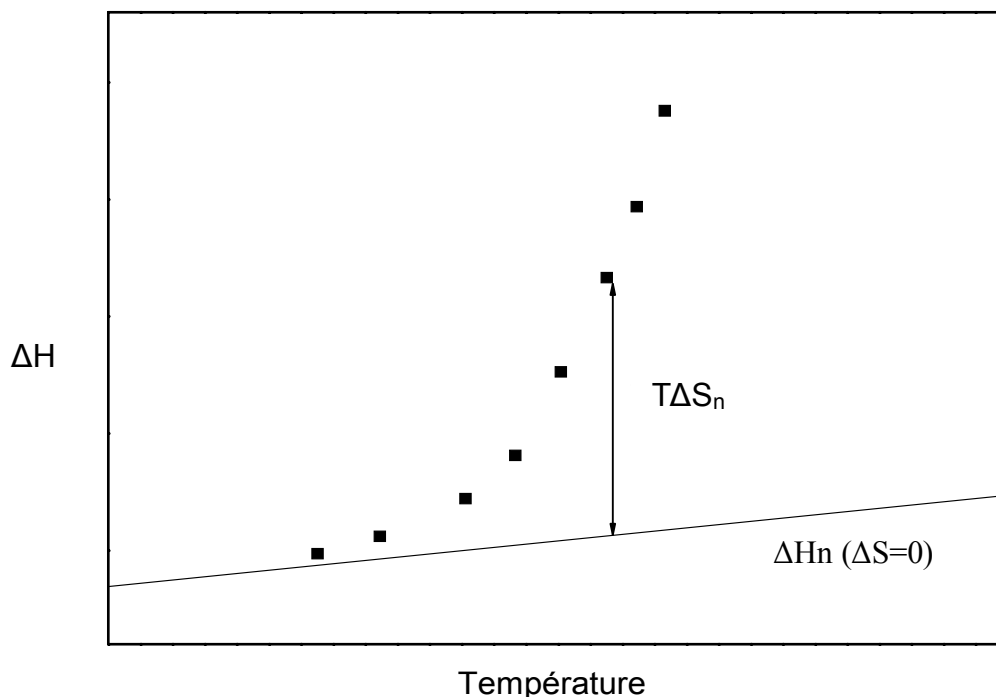


Figure II-5 : Représentation du critère de Starkweather

D'une façon générale, dans les polymères les relaxations primaires sont coopératives contrairement aux relaxations secondaires.

- *Phénomène de compensation*

Généralement, les paramètres d'activation sont indépendants les uns des autres. Toutefois une relation linéaire peut exister entre l'entropie ΔS et l'enthalpie ΔH d'activation : c'est le phénomène de compensation [108,109,110,111]. Plusieurs interprétations de la loi de compensation ont été proposées. Hoffman, Williams et Passaglia (HWP) [112] l'ont observée dans une série de paraffines dont le nombre de groupements aliphatiques n est croissant. Ces auteurs ont fait l'hypothèse que l'entropie d'activation ΔS_n et l'enthalpie d'activation ΔH_n soient liées à la taille de l'entité relaxante :

$$\Delta H_n = n \Delta H_0 + \Delta H_f \quad \text{II-25}$$

$$\Delta S_n = n \Delta S_0 \quad \text{II-26}$$

Avec ΔH_0 et ΔS_0 enthalpie et entropie d'activation d'un groupement aliphatique et ΔH_f l'enthalpie d'activation des extrémités de chaîne.

La température de compensation T_c est définie comme le rapport de l'enthalpie par l'entropie d'activation :

$$T_c = \frac{\Delta H_0}{\Delta S_0} \quad \text{II-27}$$

Il y a alors linéarité entre ΔS_n et ΔH_n :

$$\Delta S_n = \frac{\Delta H_n}{T_c} - \frac{\Delta H_f}{T_c} \quad \text{II-28}$$

La dépendance en température des temps de relaxation déduite de la théorie des barrières [92] s'écrit :

$$\tau_n(T) = \tau_c \cdot \exp \left[\frac{\Delta H_n}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_c} \right) \right] \quad \text{II-29}$$

Avec le temps de compensation

$$\tau_c = \frac{h}{k_B T} \cdot \exp \left(\frac{\Delta H_f}{R T_c} \right) \quad \text{II-30}$$

Le facteur pré-exponentiel τ_0 de l'équation II-10 (p.55) est donné par :

$$\tau_0 = \tau_c \cdot \exp\left(-\frac{\Delta H_n}{RT_c}\right) \quad \text{II-31}$$

Lorsque la longueur des séquences mobiles augmente, l'enthalpie d'activation croît et τ_0 décroît, compensant ainsi l'augmentation du terme exponentiel.

Les relations II-28 et II-30 permettent d'expliciter l'entropie en fonction de l'enthalpie d'activation

$$\Delta S_n = \frac{\Delta H_n}{T_c} - R \ln\left(\frac{\tau_c k_B T}{h}\right) \quad \text{II-32}$$

Trois diagrammes mettent en évidence ce phénomène de compensation :

La représentation de $\log(\tau_n)$ en fonction de $1/T$ (Figure II-6). Les droites d'Arrhenius associées à chaque thermogramme élémentaire, obtenu par la technique de polarisation fractionnée, convergent vers un point de coordonnées $[1/T_c, \tau_c]$ quand il y a un phénomène de compensation. En ce point, toutes les entités mobiles de différentes tailles relaxent avec la même cinétique.

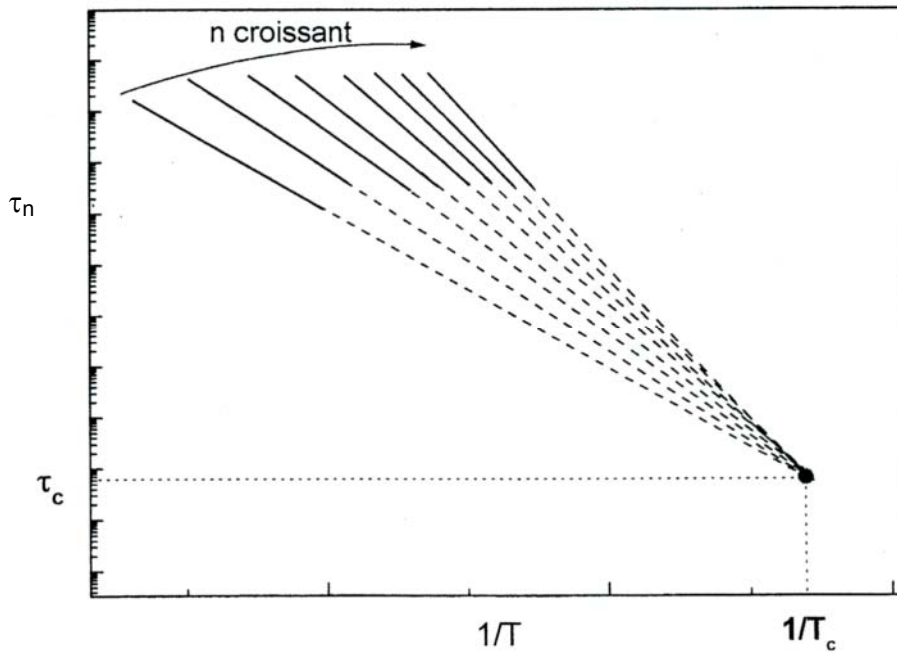


Figure II-6 : Phénomène de compensation sur un diagramme d'Arrhenius

La représentation de $\log(\tau_0)$ en fonction de ΔH_n (équation II-31) constitue le diagramme de compensation du phénomène de relaxation (Figure II-7). Les paramètres de compensation T_c et τ_c sont respectivement déterminés via la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite comme l'indique la figure ci-dessous.

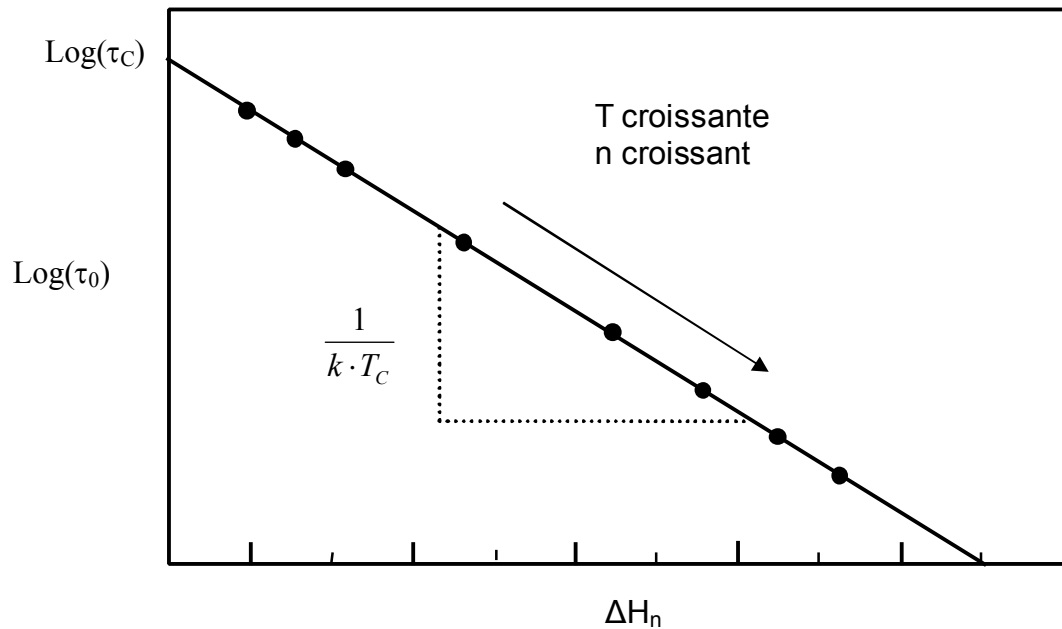


Figure II-7 : Diagramme de compensation facteur pré-exponentiel / enthalpie

Le diagramme de compensation peut être aussi obtenu en utilisant l'équation II-32 (p.65). La figure II-8 constitue une autre représentation du phénomène de compensation.

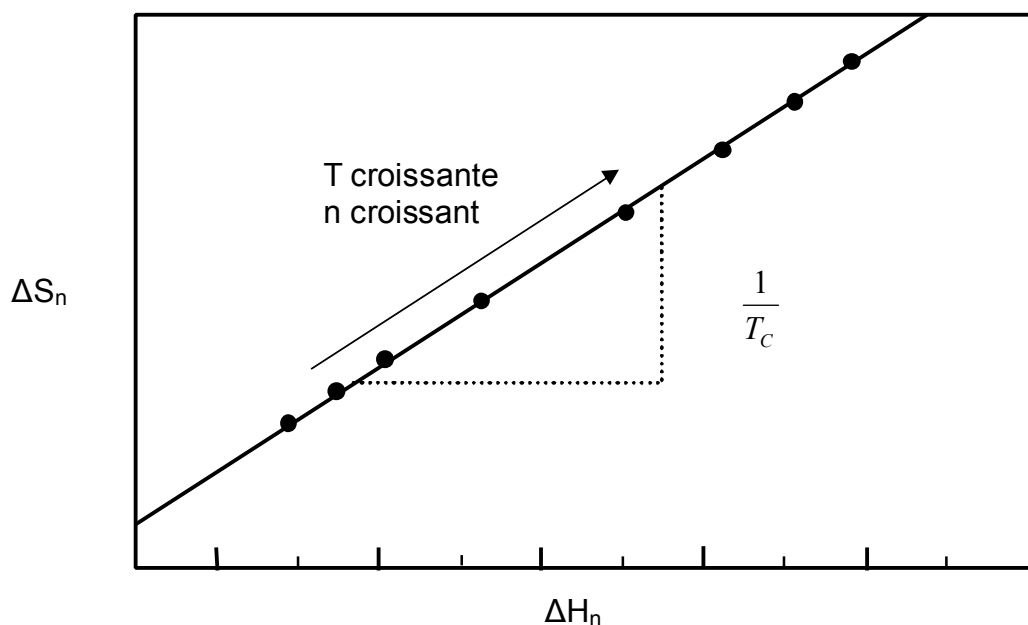


Figure II-8 : Diagramme de compensation entropie / enthalpie

III. Protocole d'hydratation d'un polymère cellulosique

Ce protocole décrit la manière de contrôler le taux d'hygrométrie d'un échantillon. L'échantillon est placé dans une atmosphère sèche afin de retirer l'humidité initiale due à l'air ambiant. Sa masse est contrôlée par une pesée régulière jusqu'à ce qu'elle soit constante. Cette masse de l'échantillon déshydraté m_0 sert de référence pour la mesure de la quantité d'eau contenue dans l'échantillon. L'atmosphère sèche est réalisée dans une enceinte hermétique contenant du P_2O_5 et l'échantillon est stocké pendant 72 h à une température de 25 °C.

La deuxième étape est l'hydratation de l'échantillon. Celle-ci est réalisée de deux manières différentes qui dépendent de la nature de l'échantillon et du taux d'hygrométrie souhaité.

III.1 Utilisation de solutions salines saturées

Dans une enceinte hermétique contenant une solution saline saturée, l'air au-dessus de cette solution acquiert une humidité relative qui dépend de la nature de la solution saline. Pour obtenir le taux d'hygrométrie de 3% et 13% d'eau contenue dans l'échantillon, des solutions salines saturées respectivement, de chlorure de magnésium hexa hydraté (33% HR) et de chlorure de sodium (75% HR) sont utilisées. L'échantillon est placé dans l'enceinte pendant 144h à une température de 25 °C. Avec la même enceinte contenant la solution saturée de chlorure de sodium, on peut obtenir un échantillon de cellulose hydraté à 7%. Le temps de stockage optimal est alors déterminé par un contrôle régulier de la masse de l'échantillon, jusqu'à obtenir la teneur en eau souhaitée.

III.2 Utilisation de l'humidité relative ambiante

L'autre méthode consiste à utiliser les propriétés d'absorption d'eau du matériau à l'air ambiant. A l'aide d'un psychromètre, l'humidité relative de l'air peut être mesurée (elle dépend évidemment des conditions météorologiques). Après avoir effectué un grand nombre d'expériences, l'humidité relative de l'air en un point donné dans une période définie est comprise entre 40% par temps sec à 60% par temps humide pour une température de 25°C. La masse de l'échantillon m_t est suivie au cours du temps à l'aide d'une balance de précision.

III.3 Calcul du taux d'hygrométrie

La masse de l'échantillon à l'instant t m_t , et la masse de l'échantillon sec m_0 permettent de calculer le pourcentage d'eau absorbée par la relation suivante :

$$h(\%) = 100 \cdot \left(\frac{m_t - m_0}{m_0} \right) \quad \text{II-33}$$

Les points expérimentaux ainsi obtenus sont reportés sur deux types de graphe. Le premier représente l'hydratation du matériau en fonction du temps. Il permet de connaître l'hydratation du matériau à un temps donné sans utiliser la méthode gravimétrique et de déterminer la quantité d'eau à saturation.

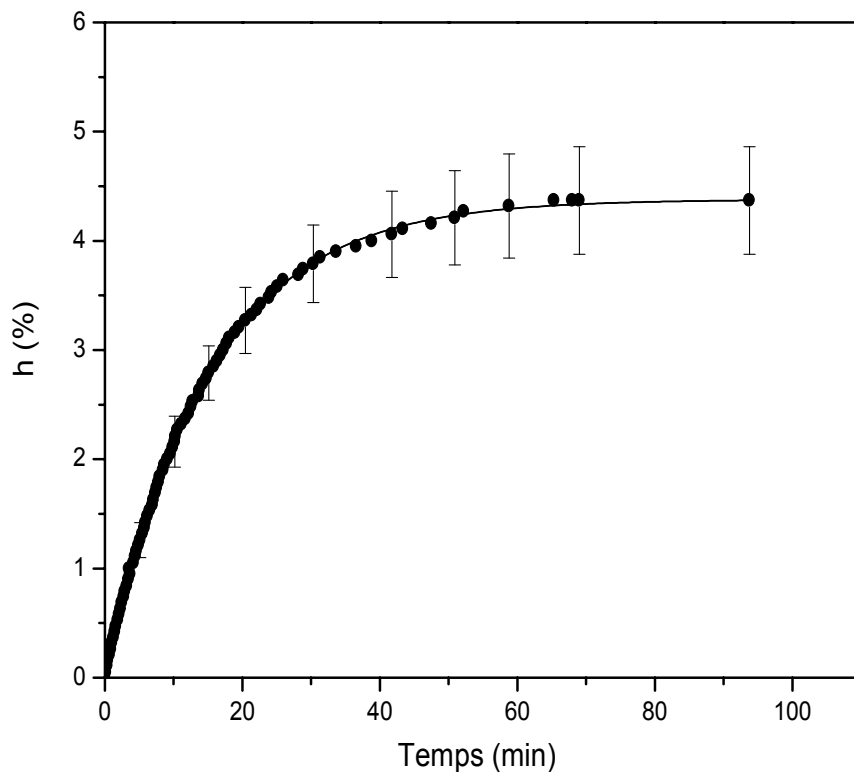


Figure II-9 : Courbes de sorption de la cellulose à une température de 25°C pour une humidité relative de 55%

Le deuxième consiste à reporter l'hydratation en fonction de la racine carrée du temps. Ce graphe représente la diffusion de l'eau dans le matériau. Son analyse permet d'étudier la cinétique de diffusion de l'eau pour en déduire à partir des modèles de Fick ou Langmuir le coefficient de diffusion. Cependant cette approximation n'est valable qu'à un faible temps t [113,114].

Chapitre III

Propriétés Physiques des Polymères Pariétaux

I. Cellulose	72
I.1 Propriétés thermiques	72
I.1.1 Stabilité thermique	72
I.1.2 Transition	76
I.2 Propriétés diélectriques	78
I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	78
I.2.2 Mobilité moléculaire localisée	81
II. Lignine.....	86
II.1 Propriétés thermiques	86
II.1.1 Stabilité	86
II.1.2 Transition.....	87
II.2 Propriétés diélectriques.....	88
II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	88
II.2.2 Mobilité moléculaire localisée	90
III. Discussion sur les polymères pariétaux	93
III.1 Stabilité thermique.....	93
III.2 Corrélation Transition vitreuse – Relaxation primaire	94
III.2.1 Cellulose	94
III.2.2 Lignine	98
III.3 Relaxations secondaires	102

I. Cellulose

I.1 Propriétés thermiques

I.1.1 Stabilité thermique

La stabilité thermique de la cellulose a été étudiée par l'analyse thermogravimétrique couplée spectrométrie infrarouge à une vitesse de montée en température de 10°C/min. L'évolution du pourcentage de la masse de l'échantillon ainsi que sa dérivée par rapport à la température sont représentées en fonction de la température de 25°C à 550°C (Figure III-1).

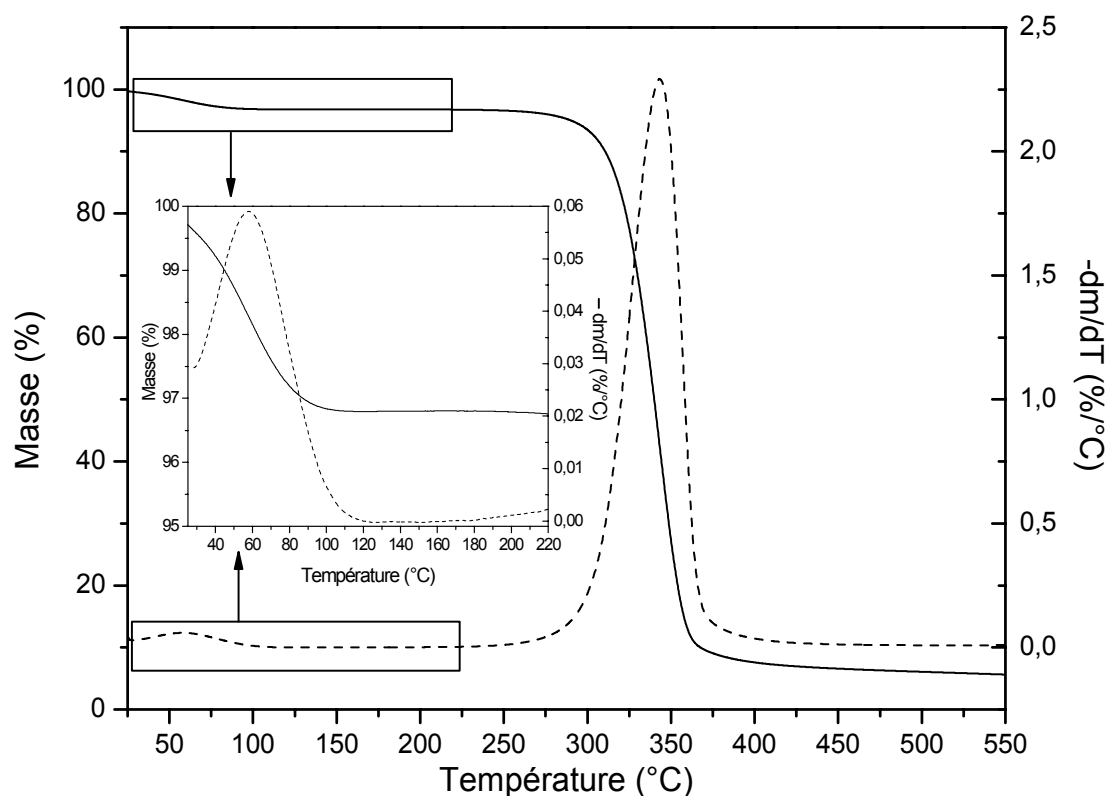


Figure III-1 : Thermogramme d'ATG de la cellulose [—] et sa dérivée [- - -] de la température ambiante à 550°C à 10°C/min

Deux événements thermiques sont remarquables. L'analyse des effluents par le spectromètre infrarouge à transformée de Fourier nous permet d'attribuer le premier événement à 60°C à un départ d'eau. La teneur en eau dans cet échantillon est estimée à 3%. Ce taux varie à 4% selon l'humidité relative de l'air ambiant (cf. Chapitre 2 Figure II-9 p.68). Le deuxième événement est mis en évidence dans la fenêtre de température 250-450°C. Le maximum du pic de la dérivée à 343°C ainsi

que sa forme étroite traduisent la dégradation d'un matériau pur. Au-delà de 500°C, les résidus représentent environ 10%. Le tableau III-1 présente l'analyse statistique des deux pertes de masse ainsi que des résidus après plusieurs essais.

1 ^{ère} perte de masse (%)	2 ^{ème} perte de masse (%)	Résidus organiques (%)
3,4 ± 0,8	91,7 ± 3,3	8,3 ± 3,3

Tableau III-1 : Données d'analyse thermogravimétrique

La stabilité thermique d'un matériau pur comme la cellulose peut être influencée par la morphologie ou l'échantillonnage. Le même type d'analyse est réalisé avec trois types d'échantillonnage : poudre, pastille et fibres. La poudre de cellulose est transformée en pastille en appliquant une pression de 75 MPa et l'influence de la morphologie est étudiée à l'aide de fibres de cellulose. Les dérivées des thermogrammes d'ATG sont présentées sur la figure III-2.

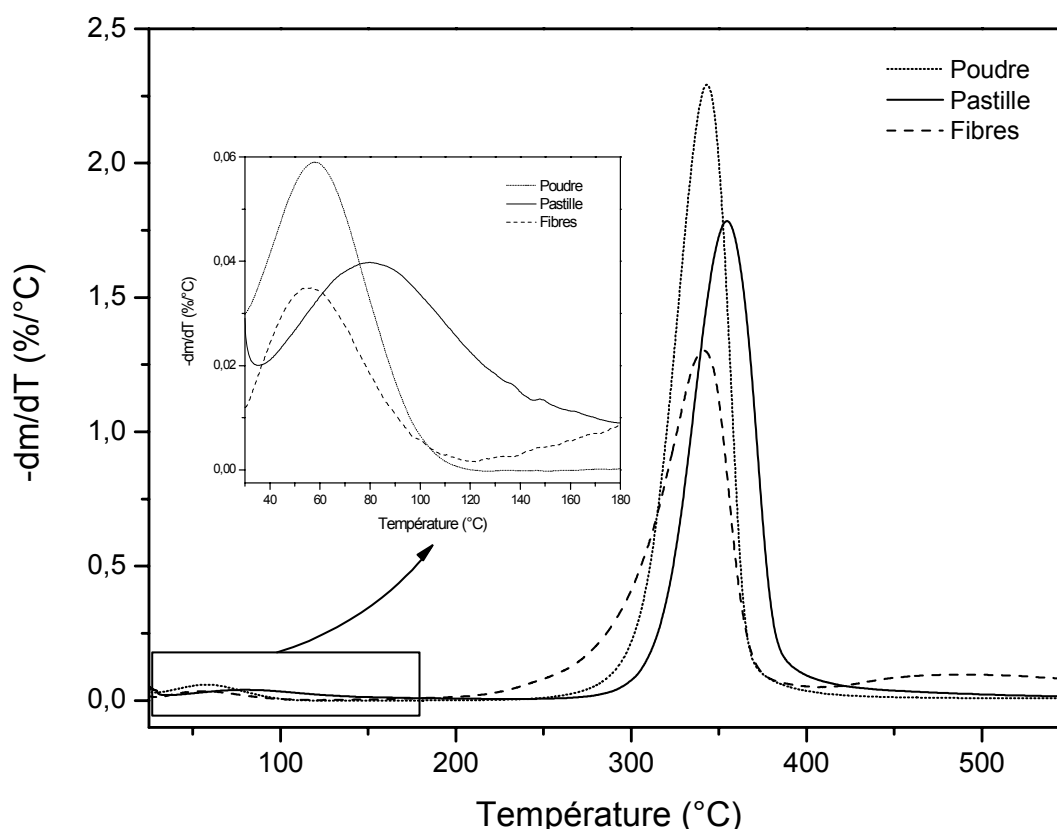


Figure III-2 : Dérivées des thermogrammes ATG de la cellulose en poudre, pastille et fibres de la température ambiante à 550°C avec un balayage à 10°C/min

Les positions en température des pics de départ d'eau et de dégradation sont sensiblement les mêmes pour les échantillons de poudre et de fibres. Le pic de dégradation des fibres est plus large que celui des deux autres échantillons. La forme de ce pic traduit la moindre pureté des fibres par rapport à la poudre (cellulose extraite). La différence la plus notable se situe sur les échantillons de cellulose en pastille. On observe un décalage en température des deux événements caractéristiques. La perte de masse liée à un départ d'eau se produit à 80°C au lieu de 60°C et la dégradation du matériau se décale de 10°C vers les hautes températures. Les résultats obtenus montrent que, indépendamment de la morphologie ou de l'échantillonnage, la cellulose garde son caractère hydrophile mais sa stabilité thermique est influencée.

Afin de confirmer le résultat précédent et d'étudier l'influence de la pression sur la mise en œuvre des pastilles de cellulose à partir de poudre, les résultats d'ATG sont analysés en utilisant la méthode de Broido (cf. Equations II-1 et II-2 p.50). Cette méthode permet d'accéder à l'énergie d'activation de la dégradation du matériau. Les résultats sont présentés sur la figure III-3 et reportés dans le tableau III-2.

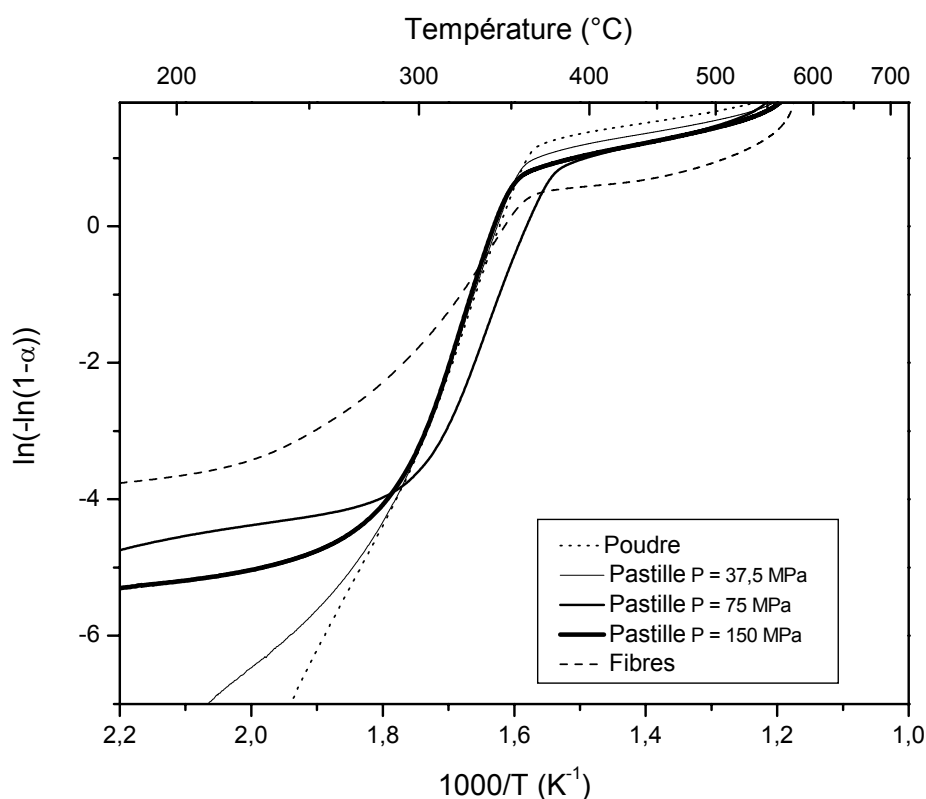


Figure III-3 : Représentation de Broido de trois types d'échantillons de cellulose fibres, poudres et pastilles pour trois pressions de mise en œuvre différentes

Cellulose	Poudre	Pastille P=37,5 MPa	Pastille P=75 MPa	Pastille P=150 MPa	Fibres
Ea (kJ/mol)	225 ± 4	232 ± 4	237 ± 13	238 ± 10	120 ± 3

Tableau III-2 : Energie d'activation de la dégradation de trois types d'échantillons de cellulose fibres, poudres et pastilles pour trois pression différentes de mise en œuvre

L'énergie nécessaire à la dégradation de la pastille (~238 kJ/mol) est supérieure à celle fournie pour la poudre ou les fibres. De plus, quelle que soit la pression appliquée, l'énergie d'activation de dégradation est sensiblement équivalente. Les résultats obtenus confirment que le type d'échantillon étudié influence les paramètres physiques de la cellulose, contrairement à la pression appliquée lors de la mise en œuvre de pastille.

I.1.2 Transition vitreuse

La cellulose en pastille a été étudiée en analyse calorimétrique diatherme avec une vitesse de montée en température de 20°C/min. L'évolution du flux de chaleur en fonction de la température est représentée sur la figure III-4 de 0°C à 180°C. Cette figure présente quatre montées en température successives effectuées sur un même échantillon. Entre chaque essai, l'échantillon est refroidi à 20°C/min jusqu'à -20°C. Ce protocole permet de vérifier la reproductibilité du résultat ainsi que la réponse du matériau déshydraté.

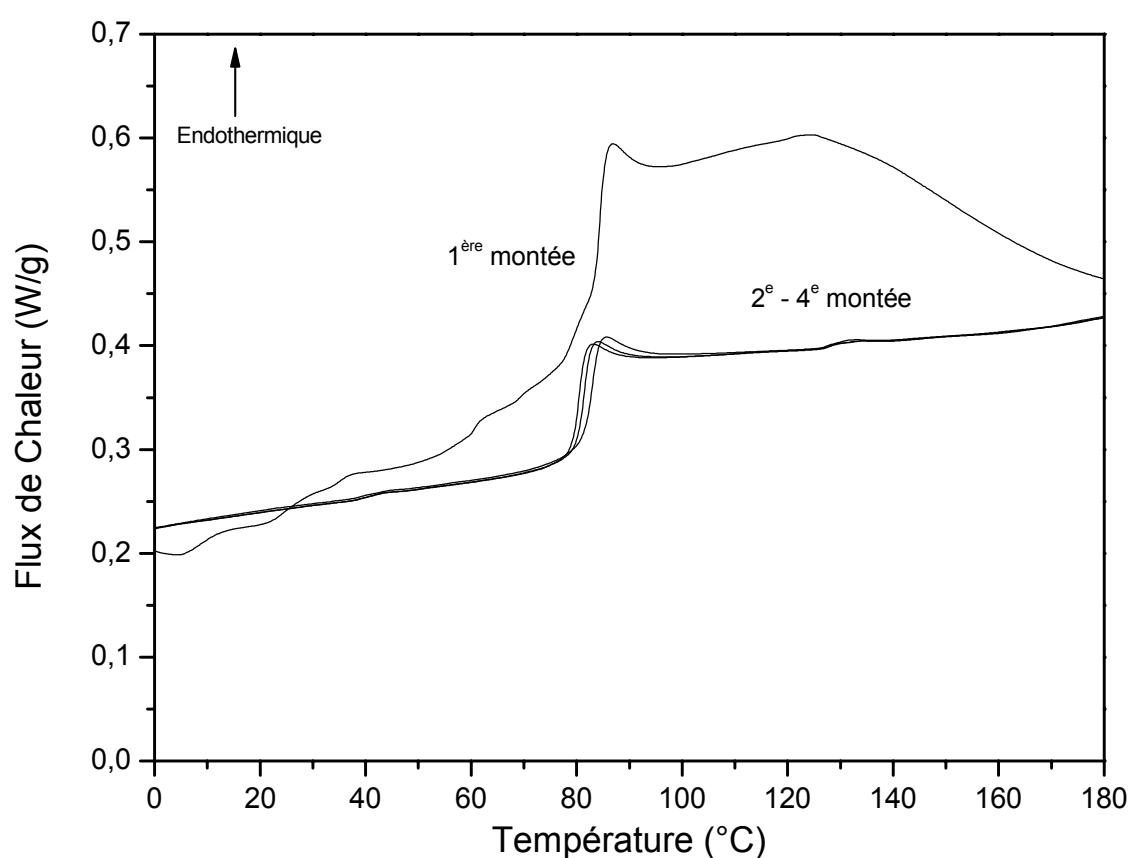


Figure III-4 : Thermogrammes ACD de la cellulose en pastille pour quatre montées successives de 0°C à 180°C avec une vitesse de 20°C/min

Un pic endothermique large associé à la perte d'eau pendant le chauffage est observé sur le premier thermogramme. Pour les suivants, un saut de capacité calorifique caractéristique de la transition vitreuse est mis en évidence. La température de transition vitreuse T_g de la cellulose déshydratée est déterminée à $84 \pm 1^\circ\text{C}$ avec $\Delta C_p = 0,30 \pm 0,01 \text{ J}/(\text{g} \cdot ^\circ\text{C})$.

La figure III-5 met en évidence un faible pic endothermique superposé au saut de capacité calorifique après avoir maintenu l'échantillon à 60°C pendant des durées variables de 15 min à 3h. Ce faible événement thermique appelé vieillissement physique, dû à la rupture de liaisons physiques, est réversible et affecte la phase amorphe de la cellulose. Cette relaxation enthalpique est liée au temps de recuit. Cependant pour la cellulose, elle n'évolue pas avec la durée de recuit. Cela signifie que la cinétique du vieillissement physique est rapide et le phénomène limité.

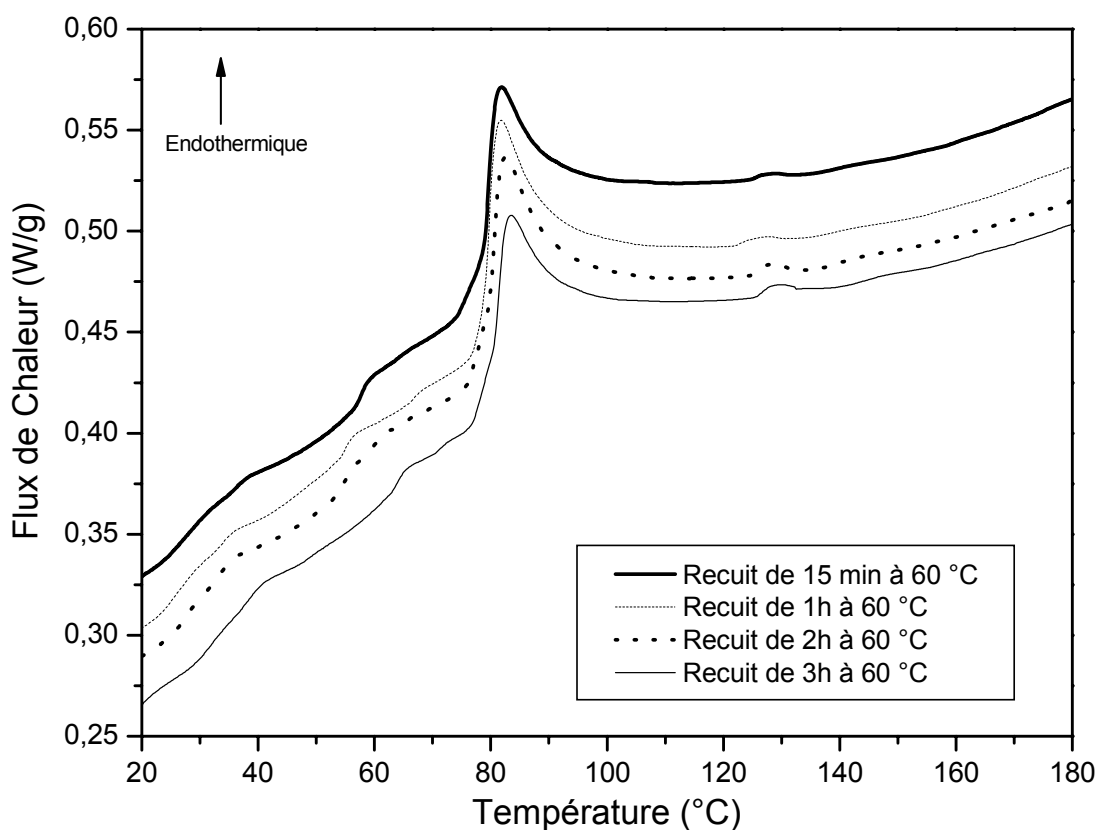


Figure III-5 : Thermogrammes ACD de la cellulose de 20°C à 180°C à 20°C/min après différentes durées de recuit à 60°C

I.2 Propriétés diélectriques

Cette partie est consacrée à l'étude des propriétés diélectriques de la cellulose pour des échantillons en pastille, préalablement stockés dans une atmosphère sèche pendant 72 h. L'influence de l'hydratation sur les propriétés diélectriques fera l'objet du chapitre suivant.

I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée

La mobilité moléculaire de la cellulose a été étudiée à haute température par la technique des courants thermostimulés et par la spectroscopie diélectrique dynamique. La figure III-6 présente le thermogramme CTS complexe de la cellulose pour une rampe de 7°C/min, et sa résolution expérimentale de 20°C à 140°C. Chaque thermogramme est obtenu après avoir appliqué un champ électrique de $E = 600 \text{ kV/m}$. Le mode de relaxation appelé α est observé sur le thermogramme complexe. Son maximum se situe à environ $T_\alpha = 94^\circ\text{C}$.

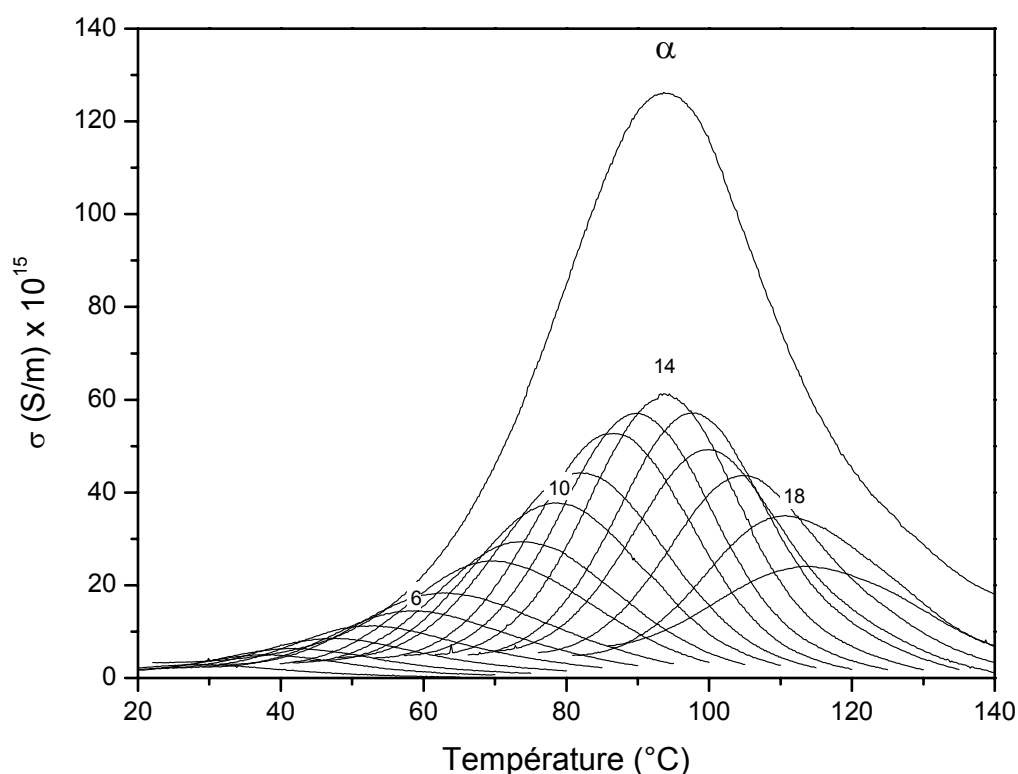


Figure III-6 : Décomposition expérimentale du mode α de la cellulose de 20°C à 140°C à 7°C/min

L'évolution de l'enthalpie d'activation en fonction de la température est représentée sur la figure III-7.

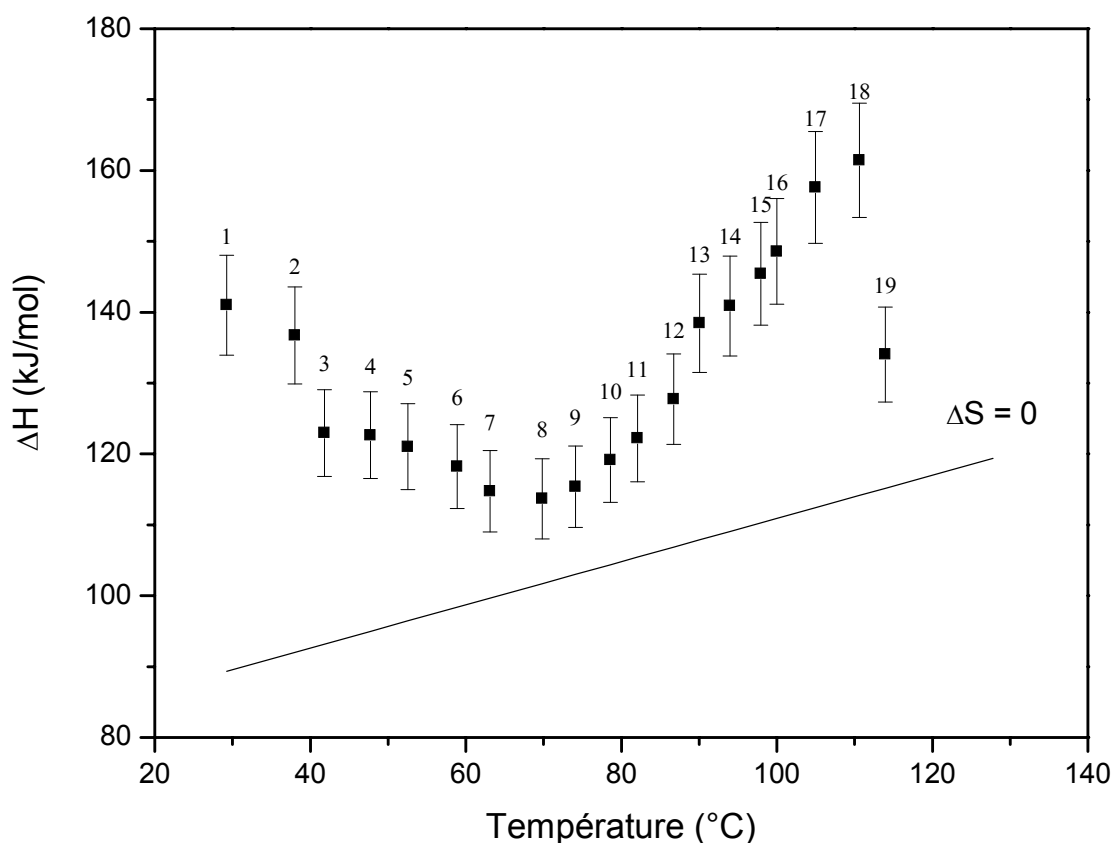


Figure III-7 : Représentation de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation α de la cellulose en fonction de la température. La ligne correspond à la « droite » de Starkweather.

Aux basses températures, les points expérimentaux (1-8) se rapprochent de la « droite » de Starkweather. Puis au-delà de 70°C, ils s'éloignent jusqu'à atteindre la valeur de 160 kJ/mol au point 18. L'écart des valeurs de l'enthalpie d'activation par rapport à la « droite de Starkweather » traduit la coopérativité de cette relaxation. Cette relaxation coopérative correspond à une relaxation primaire. Ce mode de relaxation α a également été étudié à l'aide d'un diagramme de compensation (Figure III-8 & Annexe III-1 p.190). Le phénomène de compensation se manifeste par une relation linéaire croissante entre l'entropie ΔS et l'enthalpie d'activation ΔH . Deux comportements se distinguent sur le diagramme de la figure III-8. Les points de 1 à 7 sont alignés suivant une droite décroissante alors que les points de 8 à 18 sont alignés suivant une droite croissante.

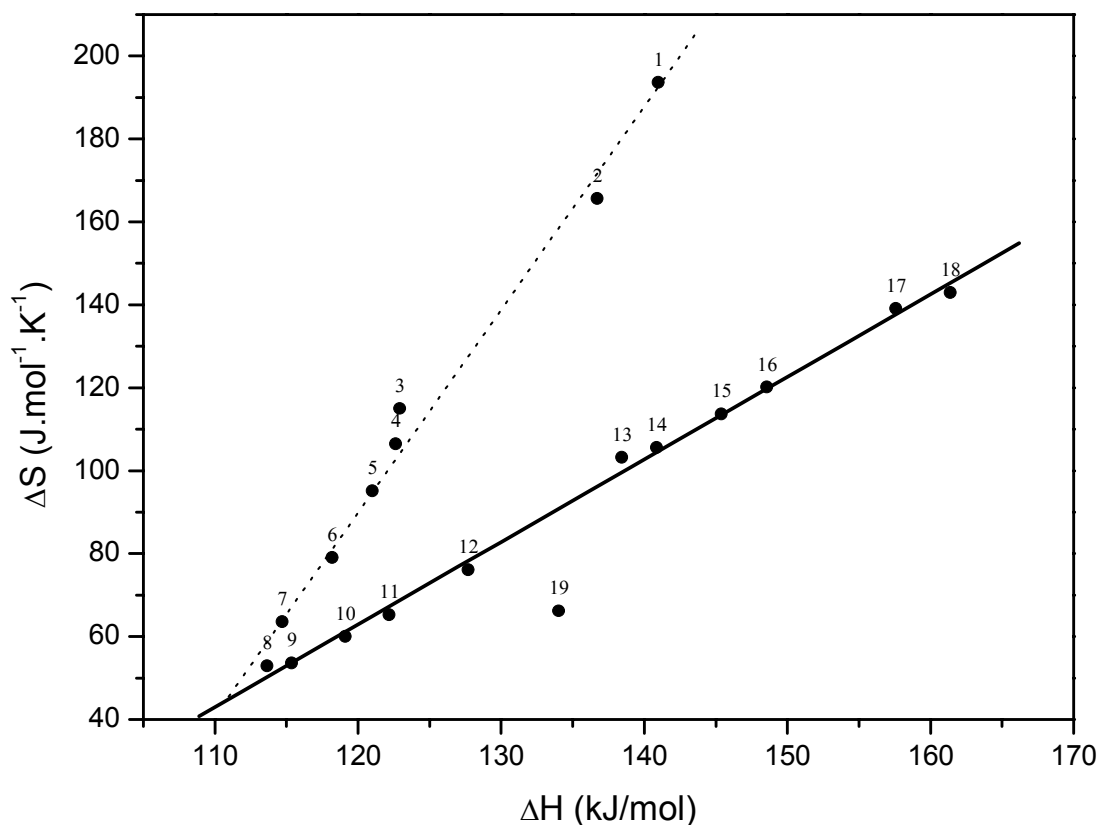


Figure III-8 : Diagramme de compensation du mode α de la cellulose

Ces comportements traduisent deux phénomènes distincts. Le premier est un phénomène d'anti-compensation. La diminution de l'entropie et de l'enthalpie d'activation implique une croissance de l'organisation des entités mobiles au fur et à mesure que la température augmente. Le deuxième phénomène est une compensation. Lorsque les valeurs d'enthalpie d'activation augmentent, l'entropie augmente également, i.e. la taille des entités mobiles sollicitées à température croissante, est de plus en plus grande. De par sa position en température, ce mode de relaxation α a été attribué à la manifestation diélectrique de la transition vitreuse.

I. 2.2 Mobilité moléculaire localisée

La mobilité moléculaire de la cellulose a été étudiée à basse température par la spectroscopie diélectrique dynamique et par la technique des courants thermostimulés. En spectroscopie diélectrique dynamique, la permittivité diélectrique complexe a été mesurée de manière isotherme pour des températures de -160 à 200°C par pas de 5°C, sur une gamme de fréquence de $[10^{-1} ; 10^6]$ Hz. La figure III-9 met en évidence un mode de relaxation qui s'élargit et se décale vers les températures croissantes quand la fréquence de sollicitation augmente.

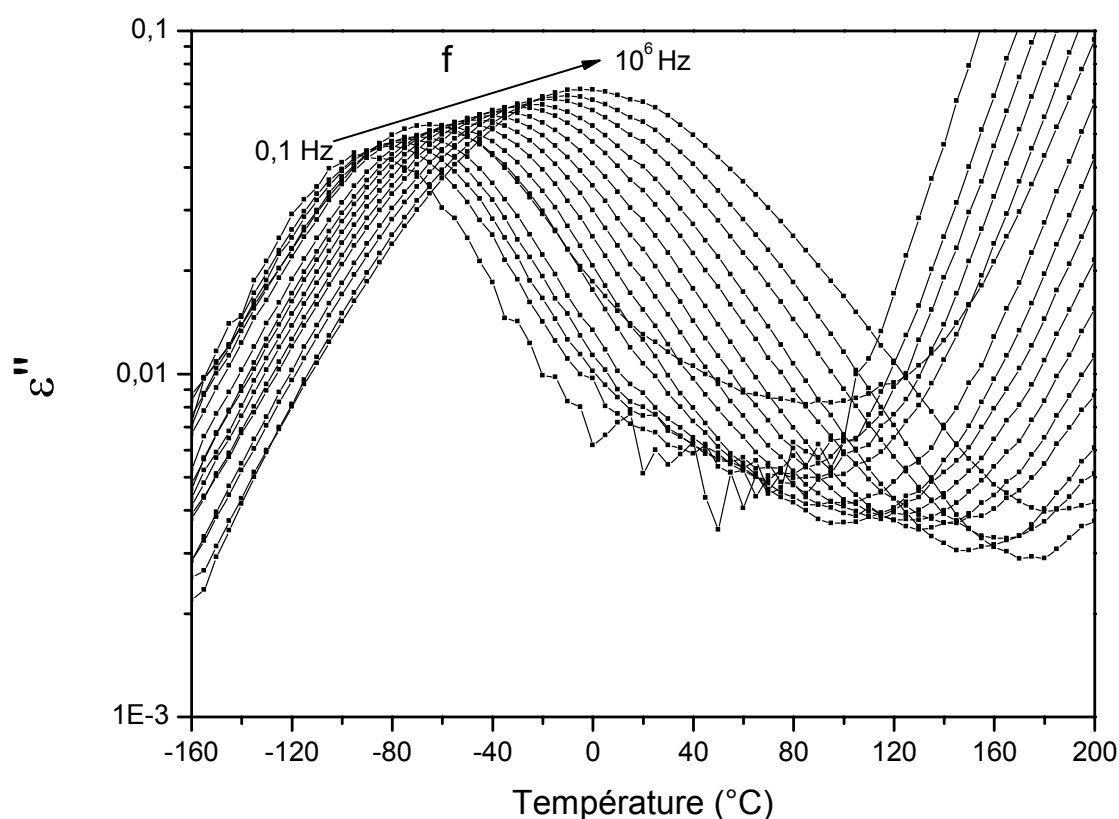


Figure III-9 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité en fonction de la température pour des fréquences comprises entre 0,1 et 106 Hz

Ce mode de relaxation est analysé à l'aide d'un diagramme d'Arrhénius (Figure III-10) où l'évolution des temps de relaxation est reportée en fonction de l'inverse de la température.

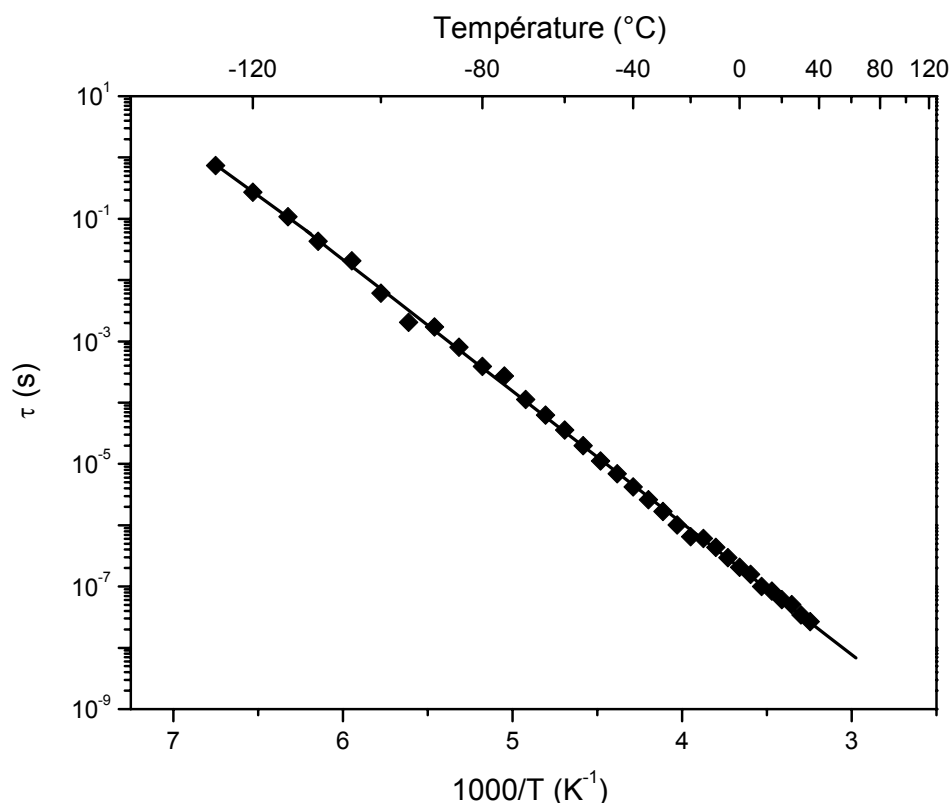


Figure III-10 : Diagramme d'Arrhénius du mode relaxation basse température de la cellulose

L'alignement des points correspondant à chaque isotherme met en évidence un comportement de type Arrhenius pour la cellulose à basse température. Les paramètres de la droite d'Arrhenius nous permettent d'obtenir respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation, $\Delta H = 41 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 47 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

L'étude de la cellulose aux basses températures se poursuit avec la technique des courants thermostimulés. Le thermogramme complexe de la figure III-11 présente l'évolution du courant de dépolarisation en fonction de la température de -160 à 0°C pour une rampe en température de 7°C/min. Le champ électrique appliqué pour obtenir une bonne résolution des thermogrammes est de 1,2 MV/m. Contrairement aux résultats de spectroscopie diélectrique dynamique, deux modes de relaxation sont mis en évidence. Le mode γ se manifeste par un pic large et intense dont le maximum se situe environ à -135°C. Le mode β apparaît sous la forme d'un épaulement avec un maximum à -65°C environ. Le thermogramme complexe présentant ces deux modes de relaxation a été résolu expérimentalement

en thermogrammes élémentaires par la technique des polarisations fractionnées. La fenêtre de polarisation de 5°C a été déplacée entre -160°C et 0°C. L'intensité maximale des thermogrammes élémentaires correspond au maximum du phénomène de relaxation. Pour le mode γ nous retrouvons le maximum du pic à -135°C alors que pour le mode β il se situe à environ -60°C. La résolution expérimentale par polarisations fractionnées permet d'augmenter la résolution et ainsi de voir la réponse spécifique de chaque mode. Les profils des thermogrammes complexes sont ensuite ajustés par des fonctions gaussiennes, à l'aide de la série des thermogrammes élémentaires qui est une fonction de distribution discrète, pour distinguer la contribution des deux modes de relaxation (trait fin sur la figure III-11).

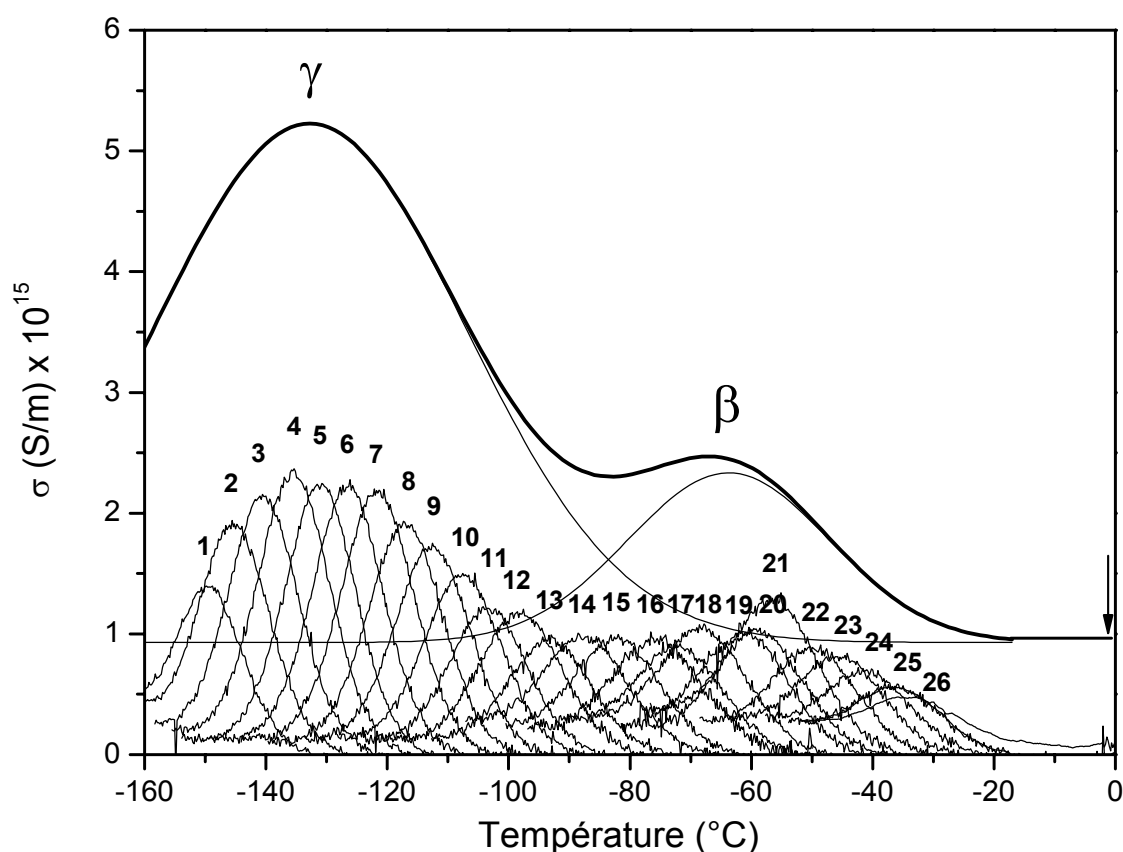


Figure III-11 : Thermogramme CTS complexe aux basses températures de la cellulose avec les élémentaires associés de -160°C à 0°C à 7°C/min

L'analyse de la série de thermogrammes élémentaires permet de connaître l'évolution de l'énergie d'activation en fonction de la température (Figure III-12). Les quatorze premières valeurs de ΔH , associées au mode de relaxation γ , suivent la

« droite » de Starkweather. Ce mode de relaxation est non coopératif et la mobilité moléculaire associée est donc localisée.

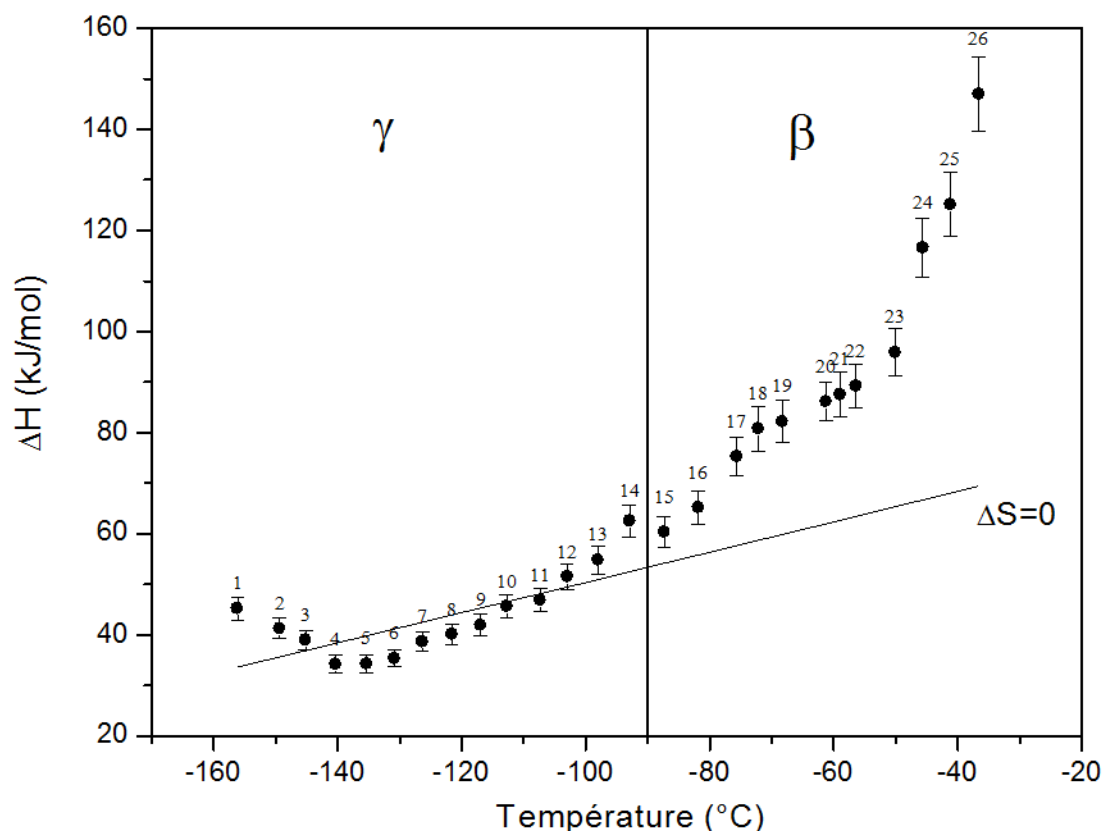


Figure III-12 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH des modes de relaxation aux basses températures de la cellulose

Les valeurs d'enthalpies associées au mode de relaxation β correspondant aux points 15 à 26 sur la figure III-12 s'écartent de la droite de Starkweather, progressivement de -90°C à -50°C puis de manière plus significative au-delà de -50°C . Ce comportement traduit le caractère coopératif lié à cette relaxation secondaire. Dans le diagramme de compensation (Figure III-13 & Annexe III-2 p.191), trois comportements distincts sont mis en évidence. Nous retrouvons un phénomène d'anti-compensation similaire à celui observé sur la figure III-8 ; puis deux compensations qui sont attribuées respectivement aux modes γ de 30 à 60 kJ/mol et β au-delà de 60 kJ/mol. Les deux relaxations secondaires obéissent à un phénomène de compensation mais le mode β possède un caractère coopératif. La différence de comportement entre ces deux relaxations provient des entités sollicitées. Le mode de relaxation γ est attribué à la mobilité des groupements

latéraux de type $-OH$ et $-CH_2OH$ pour la cellulose et le mode de relaxation β à la mobilité de segments de chaînes via les liaisons β_{1-4} glucosidiques.

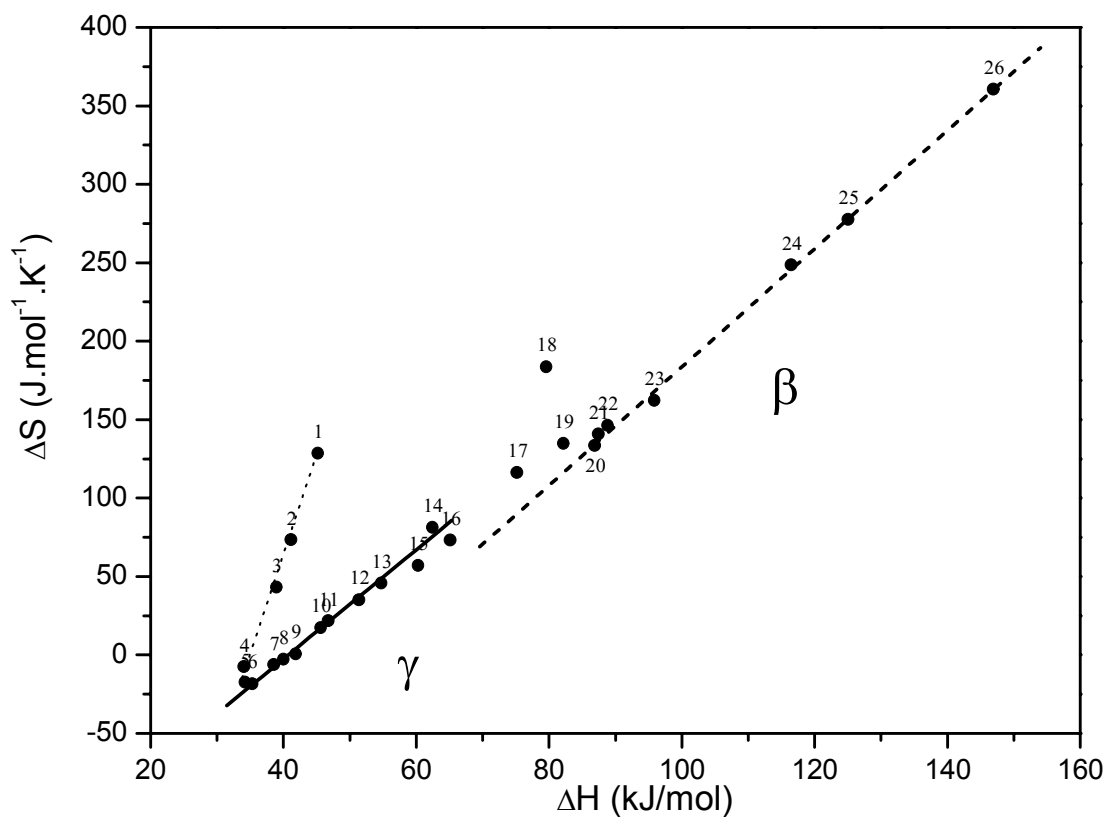


Figure III-13 : Diagramme de compensation des modes de relaxation secondaire γ et β de la cellulose

II. Lignine

II.1 Propriétés thermiques

II.1.1 Stabilité

La stabilité thermique de la lignine a été étudiée par l'analyse thermogravimétrique avec une rampe en température de 10°C/min. L'évolution de la masse ainsi que sa dérivée par rapport à la température sont représentées en fonction de la température de 25°C jusqu'à 550°C (Figure III-14).

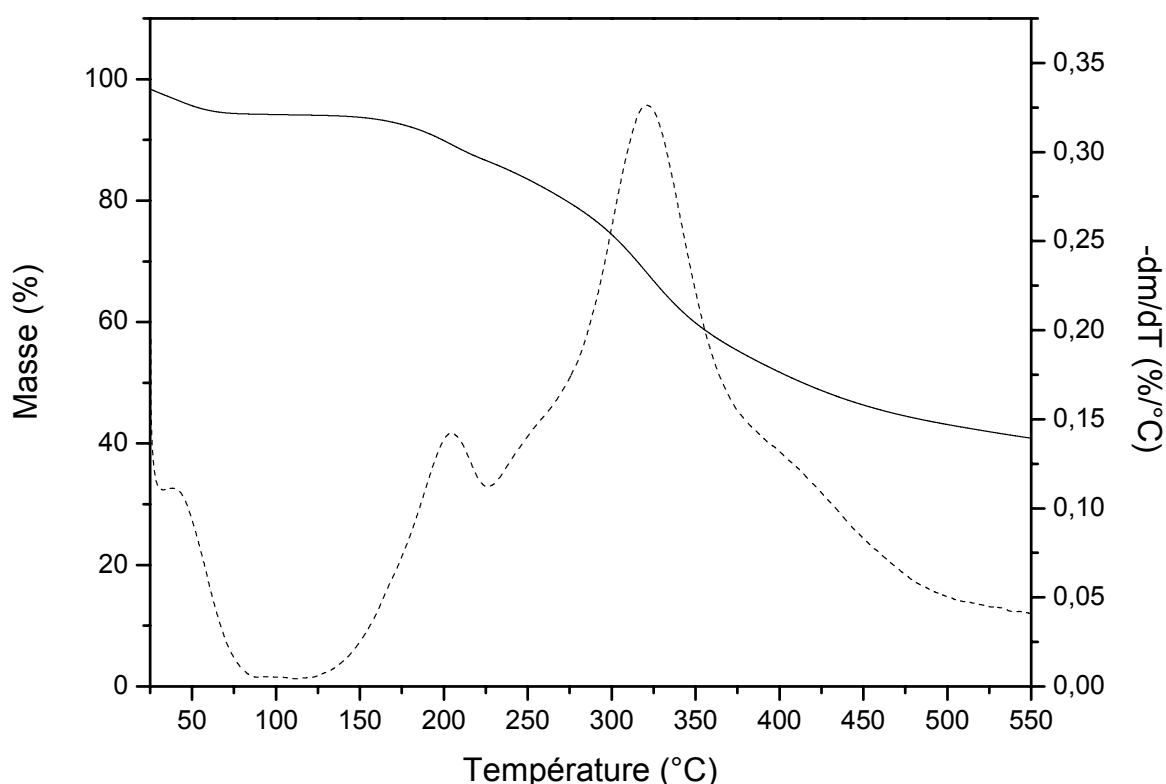


Figure III-14 : Thermogramme d'ATG de la lignine [—] et sa dérivée [- - -] de la température ambiante à 550°C à 10°C/min

Ce thermogramme met en évidence deux pertes de masse. La première de l'ordre de 5% commence à la température ambiante jusqu'à 90°C et la deuxième d'environ 57% s'étend de 180°C à 550°C. Cette dernière s'étend sur un large domaine et sa dérivée par rapport à la température montre qu'il s'agit d'un événement en plusieurs étapes. Sur le thermogramme de la dérivée nous observons deux pics dont les maxima sont respectivement à 200°C et 321°C ; deux épaulements entre 225°C-290°C et entre 370°C-500°C. La première perte de masse est due à un départ d'eau

alors que la deuxième est caractéristique de la dégradation d'un matériau complexe. La lignine se dégrade en plusieurs étapes ce qui s'explique par sa complexité structurale : sa structure chimique est issue de différents monomères et son architecture de chaîne est un réseau tridimensionnel partiellement réticulé.

II.1.2 Transition

La figure III-15 présente quatre thermogrammes successifs de la lignine de 0°C à 180°C réalisés à une vitesse de 20°C/min. Entre chaque montée l'échantillon est refroidi à la même vitesse jusqu'à -20°C.

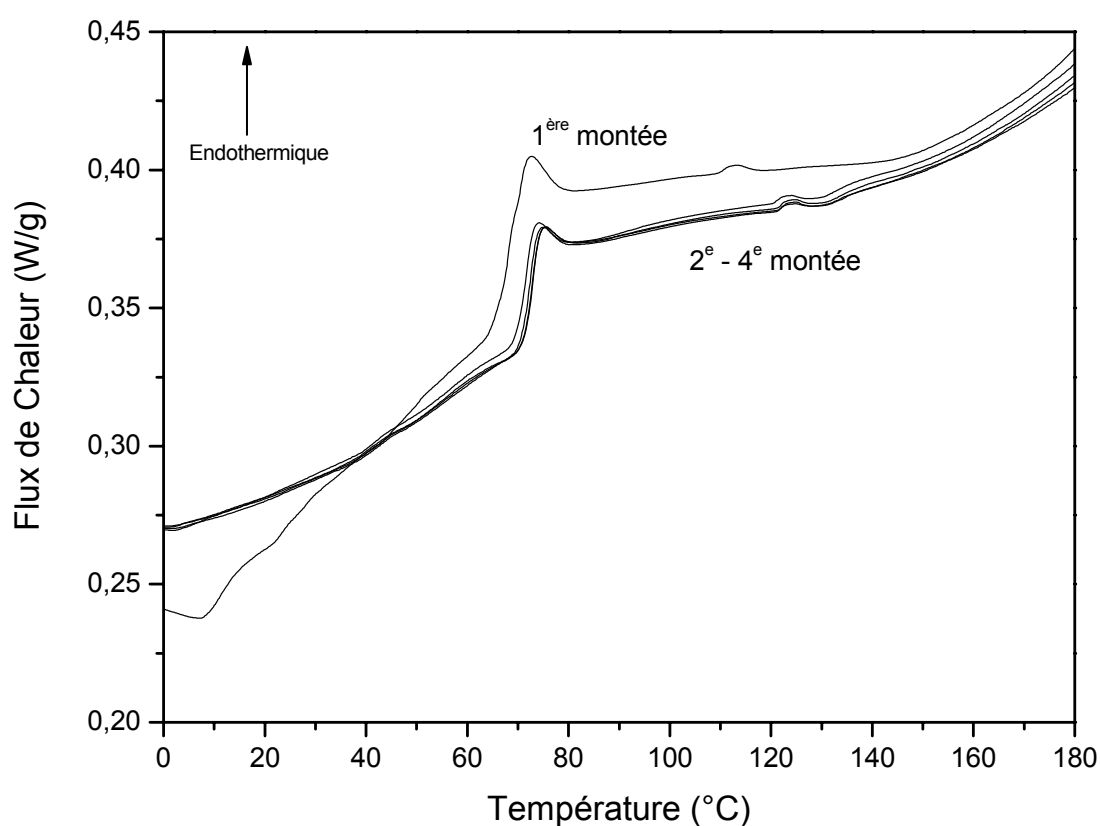


Figure III-15 : Thermogrammes ACD de la lignine en pastille pour quatre montées successives de 0°C à 180°C à 20°C/min

Un pic endothermique associé au vieillissement physique ainsi qu'un saut de capacité calorifique caractéristique de la transition vitreuse sont observés sur tous les thermogrammes. La température de transition vitreuse T_g de la lignine déshydratée est déterminée à $72 \pm 1^\circ\text{C}$ avec $\Delta C_p = 0,16 \pm 0,01 \text{ J/(g}\cdot^\circ\text{C)}$.

II.2 Propriétés diélectriques

II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée

La mobilité moléculaire de la lignine a été étudiée à haute température par la même technique que la cellulose : les courants thermostimulés. La variation de l'enthalpie en fonction de la température montre que les points expérimentaux s'écartent progressivement de la « droite de Starkweather » (Figure III-16). Cette mobilité moléculaire coopérative se délocalise au fur et à mesure que la température augmente.

En encadré de la figure III-16, le thermogramme complexe de la lignine, enregistré de 0°C à 120°C avec une vitesse de montée en température de 7°C/min et un champ électrique $E_p = 356$ kV/m appliqué à 115°C, met en évidence un pic dont le maximum se situe vers 80°C.

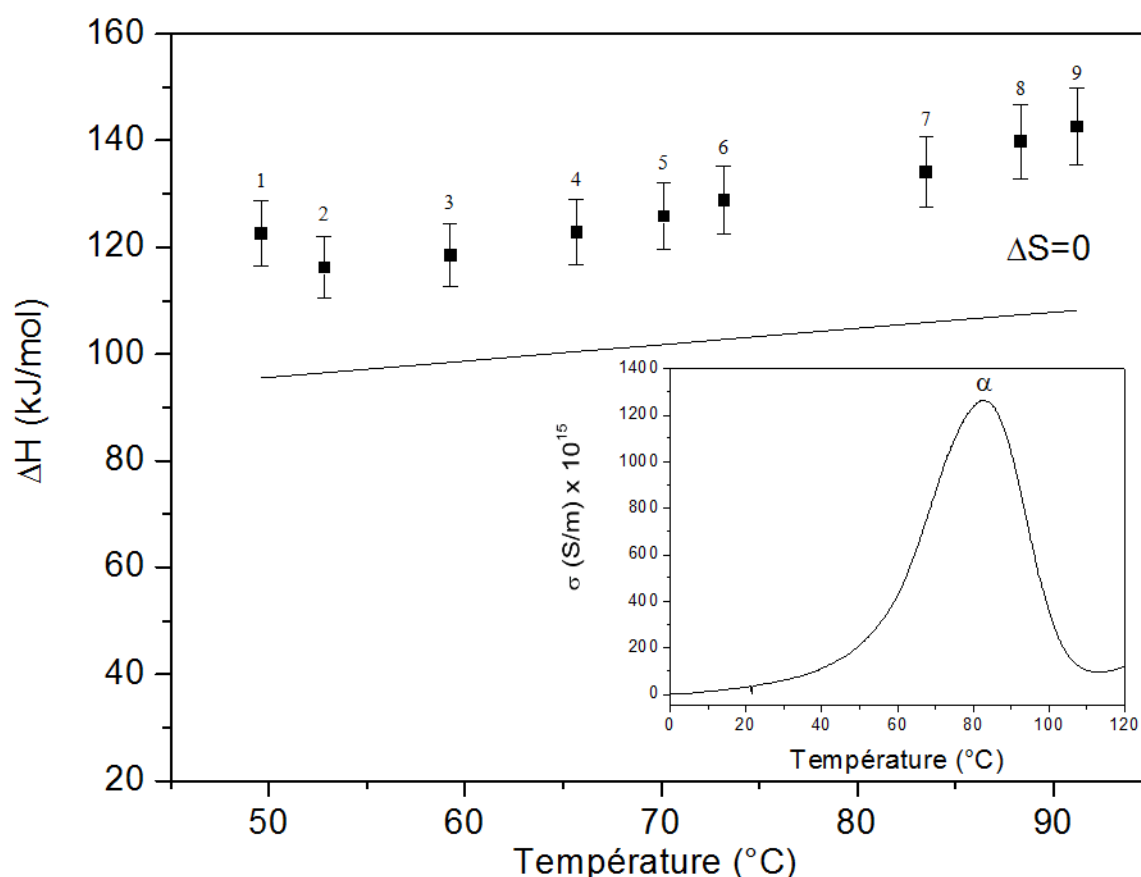


Figure III-16 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation α de la lignine. La ligne en trait plein correspond à la « droite » de Starkweather.
Thermogramme complexe de ce mode en encadré

La figure III-17 présente la droite de compensation du mode de relaxation α de la lignine (Annexe III-3 p.191). Les points expérimentaux 2 à 9 décrivent une droite, traduisant un phénomène de compensation. Les valeurs d'enthalpie augmentent de 115 kJ/mol à 145 kJ/mol et parallèlement les valeurs d'entropie d'activation progressent de 80 à 115 J.mol⁻¹.K⁻¹.

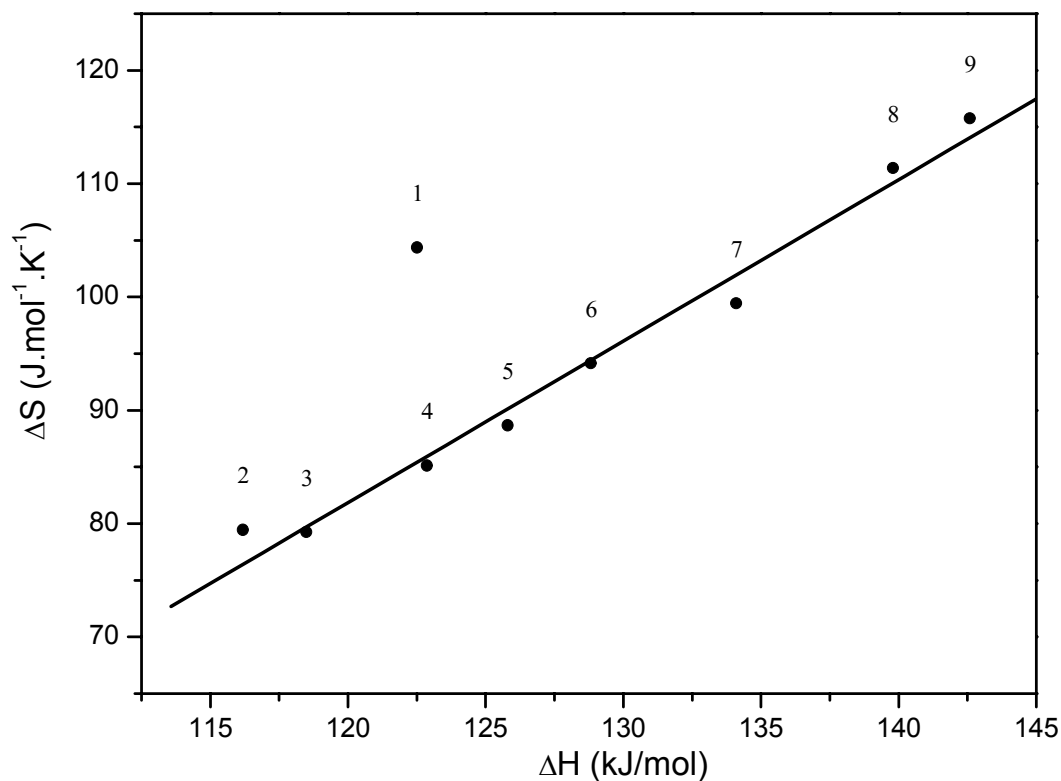


Figure III-17 : Diagramme de compensation du mode de relaxation α de la lignine

Ce mode de relaxation α est une relaxation primaire puisqu'elle est coopérative. Elle admet un phénomène de compensation. En outre de par sa position, au voisinage de la transition vitreuse de la lignine, elle est attribuée à la manifestation diélectrique de sa transition vitreuse.

II.2.2 Mobilité moléculaire localisée

La mobilité moléculaire de la lignine a été étudiée à basse température à la fois par spectroscopie diélectrique dynamique et par la technique des courants thermostimulés.

En spectroscopie diélectrique dynamique, la permittivité diélectrique complexe a été mesurée de manière isotherme pour des températures de -160 à 200°C par pas de 5°C, sur une gamme de fréquence de $[10^{-1}; 10^6]$ Hz. La figure III-18 met en évidence un mode de relaxation qui se décale vers les hautes températures quand la fréquence augmente.

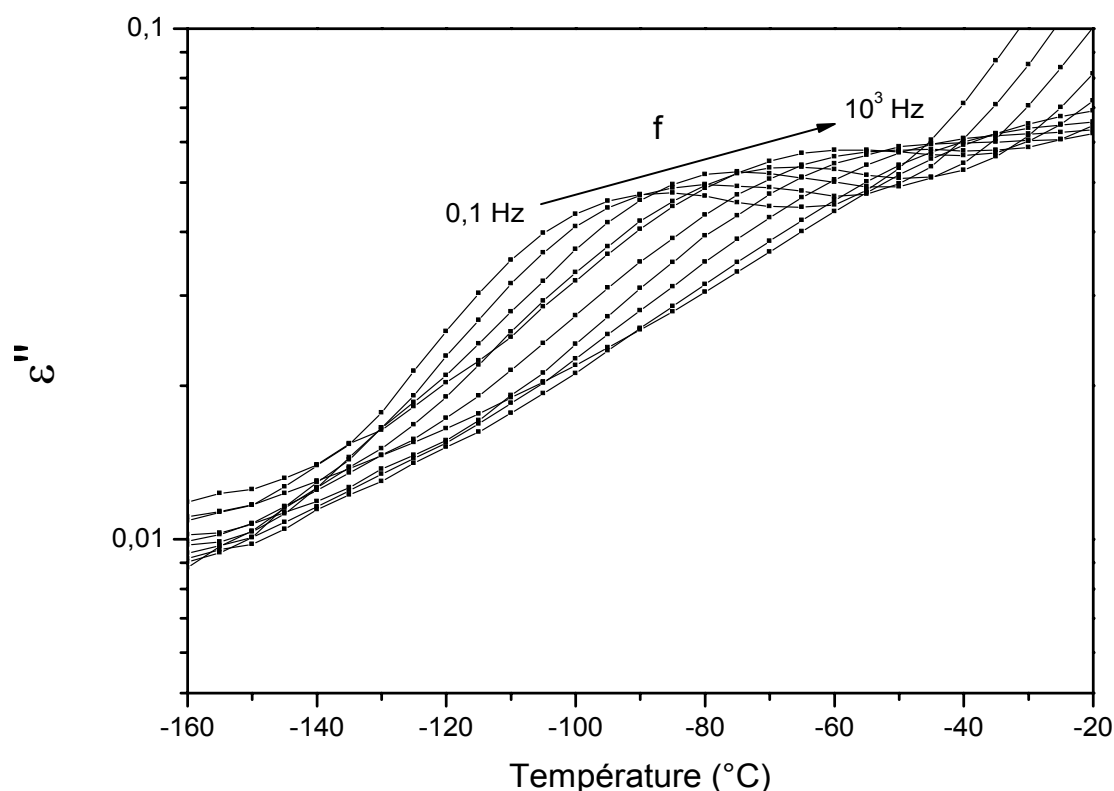


Figure III-18 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité de la lignine en fonction de la température pour les fréquences comprises entre 10^{-1} et 10^3 Hz

Ce mode de relaxation est analysé à l'aide d'un diagramme d'Arrhenius (Figure III-19).

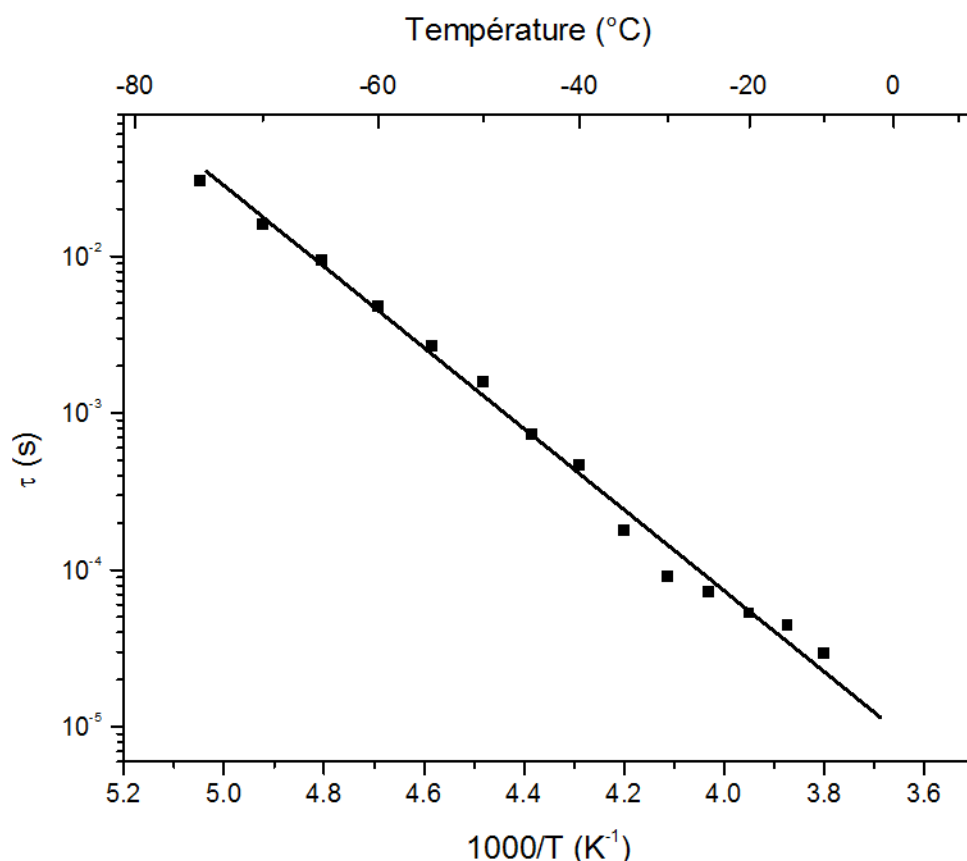


Figure III-19 : Diagramme d'Arrhenius du mode de relaxation à basse température de la lignine

L'alignement des points met en évidence un comportement de type Arrhenius pour la lignine à basse température. Les paramètres obtenus respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation sont $\Delta H = 49 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 36 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

Ce mode basse température de la lignine a ensuite été étudié par courants thermostimulés. La figure III-20 montre que les valeurs d'enthalpie d'activation du mode β de la lignine restent proches et inférieures pour la plupart à la « droite » de Starkweather. En insert de la figure III-20, le thermogramme complexe de la lignine réalisé de -140°C à -50°C avec une rampe en température égale à 7°C/min et un champ électrique $E_p = 18,4 \text{ MV/m}$ appliqué à -50°C , met en exergue le maximum du mode de relaxation à -90°C . La figure III-21 présente le diagramme de compensation du mode de relaxation β de la lignine (Annexe III-4 p.192). Les points expérimentaux de 3 à 12 décrivent une droite ce qui signifie que ce mode de relaxation suit un phénomène de compensation.

Le mode de relaxation β de la lignine est un mode de relaxation secondaire non coopératif. Il est lié à des mouvements localisés de groupements polaires de la lignine.

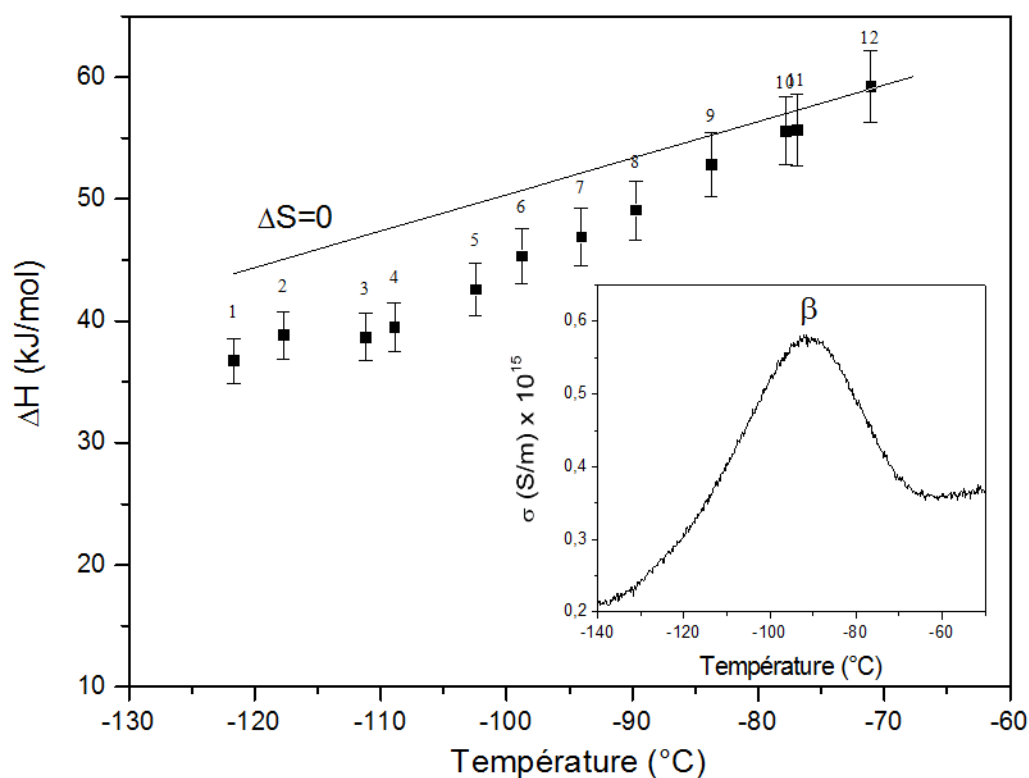


Figure III-20 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation β de la lignine. La ligne en trait plein correspond à la « droite » de Starkweather.
Thermogramme complexe de ce mode en insert

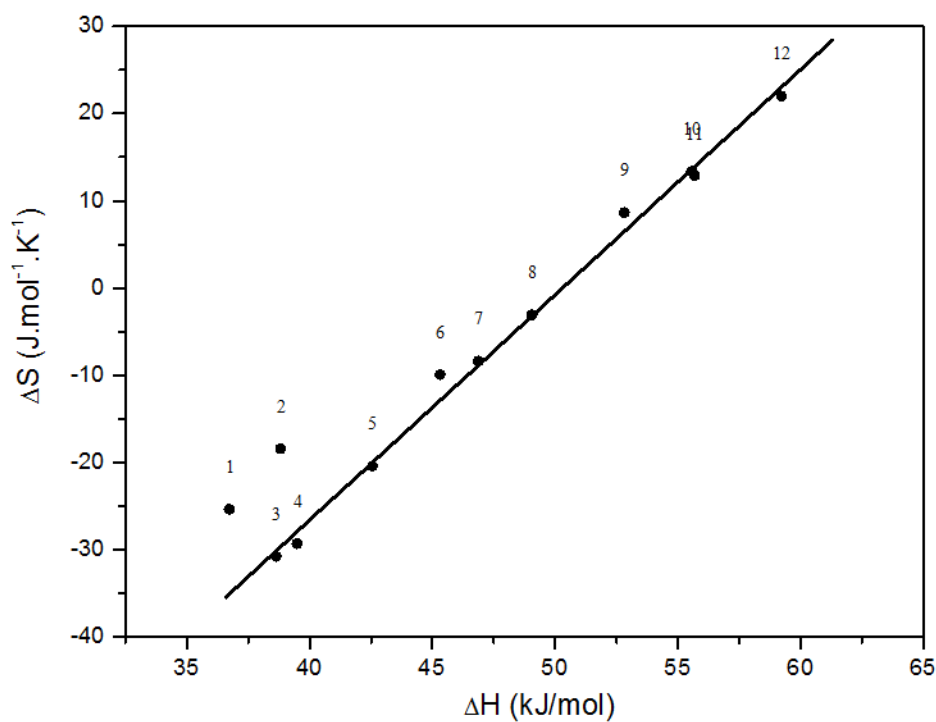


Figure III-21 : Diagramme de compensation du mode de relaxation β de la lignine

III. Discussion sur les polymères pariétaux

III.1 Stabilité thermique

Les polymères végétaux tels que la cellulose sont hydrophiles avec des teneurs en eau voisines. Cette teneur dépend de l'humidité relative de l'air et du nombre de liaisons hydrogène susceptibles d'être formées. En ATG, la présence d'eau dans le polymère se manifeste par une perte de masse comprise entre 25°C et 100°C. Ce résultat est cohérent avec les analyses IRTF d'effluents réalisées ainsi qu'avec les valeurs d'autres auteurs comme Soares [115], Devallencourt [116], Szesniak [47] pour la cellulose et Xiao [117,118], Yang [119] pour la lignine. Le comportement de la cellulose à la dégradation est différent de celui de la lignine. La dégradation de la cellulose se traduit sur le thermogramme de la dérivée de perte de masse par un pic fin dont le maximum se situe à 343°C alors que pour la lignine la dégradation apparaît sur un large domaine de température sous forme de deux pics à 200°C et 321°C avec deux épaulements.

La cellulose extraite est un matériau homogène. Ce résultat est vérifié par une autre étude qui obtient, pour la cellulose la plus pure [120], une température de 340°C au maximum de la cinétique de dégradation. La pureté chimique augmente la stabilité thermique de la cellulose [120]. La lignine au contraire, de structure hétérogène, avec une stabilité moindre, commence à se dégrader vers 180°C. Hatakeyama associe le premier pic de dégradation de la lignine à la présence d'hémicellulose résiduelle et le pic de dégradation principal à un complexe lignine-cellulose [121]. La polymérisation de la lignine avec ses trois monomères différents peut aussi expliquer la dégradation en plusieurs étapes. Le taux de résidus de la lignine est six fois supérieur à celui de la cellulose.

III.2 Corrélation Transition vitreuse – Relaxation primaire

III.2.1 Cellulose

La transition vitreuse de la cellulose a été largement étudiée et dans la plupart des cas par analyse calorimétrique diatherme [47, 122, 123]. La détermination de la température de transition vitreuse n'est pas triviale en partie due à l'influence de l'eau [122] et à la faible fraction de phase amorphe [124]. D'après Hatakeyama, les propriétés physico-chimiques de la cellulose sont largement dépendantes des régions amorphes. Par diffraction des rayons X la phase amorphe de différents types de cellulose est mesurée. Elle s'élève à 30% pour la cellulose extraite de la fleur de coton [124]. Malgré une littérature abondante, la détermination de la transition vitreuse reste encore aujourd'hui controversée. Certains auteurs comme Batzer et Kreibich ou Szesniak ont déterminé la T_g de la cellulose mais le saut de capacité calorifique observé est très faible [47,122]. D'autres comme Stubbereud n'ont pas réussi à mesurer de T_g pour la cellulose par ACD lors de l'étude de l'effet de l'eau sur la cellulose [125]. Leur hypothèse repose sur l'insuffisance de sensibilité de l'appareil associée à un taux de cristallinité élevé. Gidley et al. n'observent pas non plus de T_g pour certains polysaccharides comme la cellulose [126]. Ils attribuent ce fait à la conformation des macromolécules et aux liaisons hydrogène qui bloquent la mobilité des chaînes.

Deux hypothèses expliquent la difficulté à observer la T_g de la cellulose :

- un taux de cristallinité élevé [1,127]
- l'existence de liaisons hydrogène qui réduisent la mobilité moléculaire et ne permettent ni l'observation de la transition vitreuse ni celle de la fusion [126,127].

Dans cette étude la température de transition vitreuse de la cellulose a été déterminée à 84°C pour un échantillon de cellulose déshydratée. Même si le thermogramme montrant un saut de capacité calorifique est suffisamment explicite (Figure III-4 p.76), des études de vieillissement physique ont confirmé ce résultat. De plus la corrélation des résultats ACD – CTS permet d'affirmer qu'il s'agit bien d'une transition vitreuse.

La figure III-22 montre la superposition des thermogrammes ACD et CTS de la cellulose réalisés dans la même gamme de température.

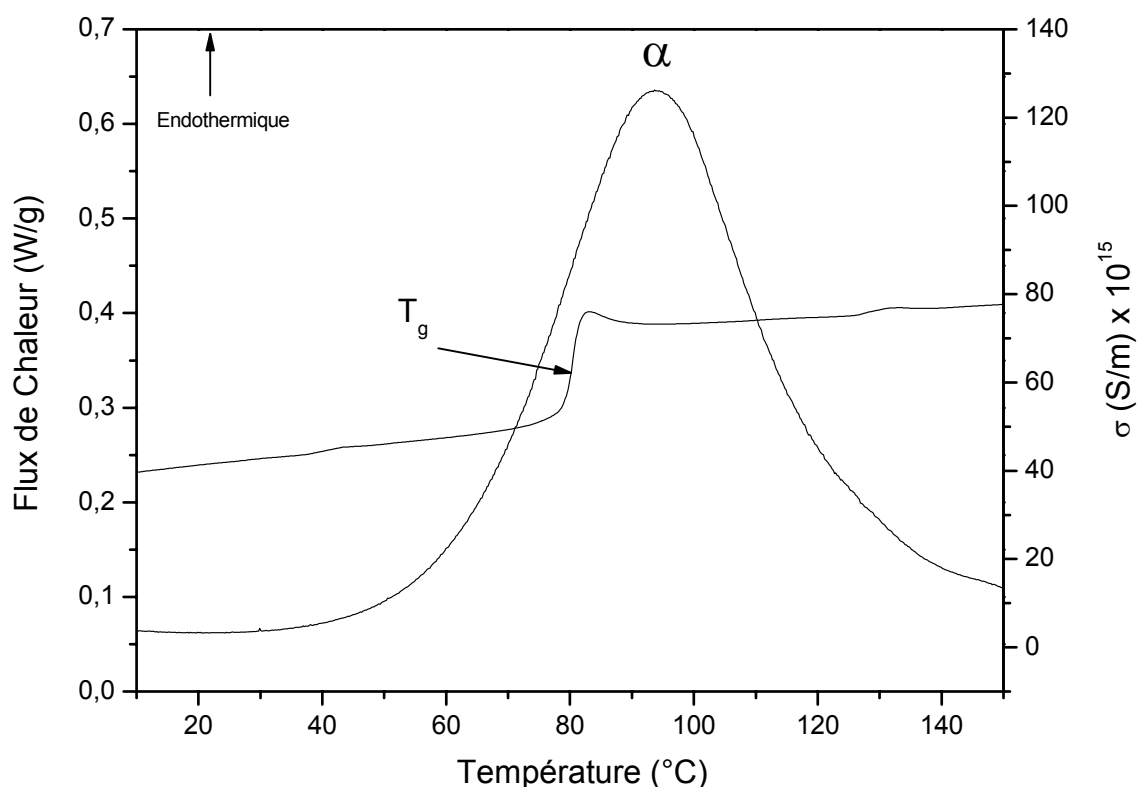


Figure III-22 : Comparaison des thermogrammes ACD et CTS de la cellulose au 2^e balayage

Le point d'inflexion du saut de capacité calorifique est déterminé à 84°C et le maximum du mode α à 94°C. L'écart en température entre les deux manifestations d'un même phénomène, s'explique par la différence de vitesse de montée en température et par la différence de nature des marqueurs (enthalpique et dipolaire).

Les figures III-23 et III-24 montrent respectivement les résultats expérimentaux de SDD de la cellulose à l'état déshydraté avant et après le traitement numérique par la méthode de Kramer-Kronig [101]. Sur la figure III-23, l'évolution de la permittivité ϵ'' en fonction de la température pour différentes fréquences, comprises entre 10^{-1} et 10^6 Hz met en évidence un mode de relaxation à basse température γ et le phénomène de conductivité σ à haute température et à basse fréquence. Après le traitement numérique, sur la figure III-24, nous pouvons toujours observer le mode γ à basse température et à haute température le mode α devient détectable et analysable. Ces deux modes se décalent vers les hautes températures quand la fréquence de sollicitation augmente. La méthode de Kramer Kronig permet de décaler le front de conductivité vers de plus hautes températures.

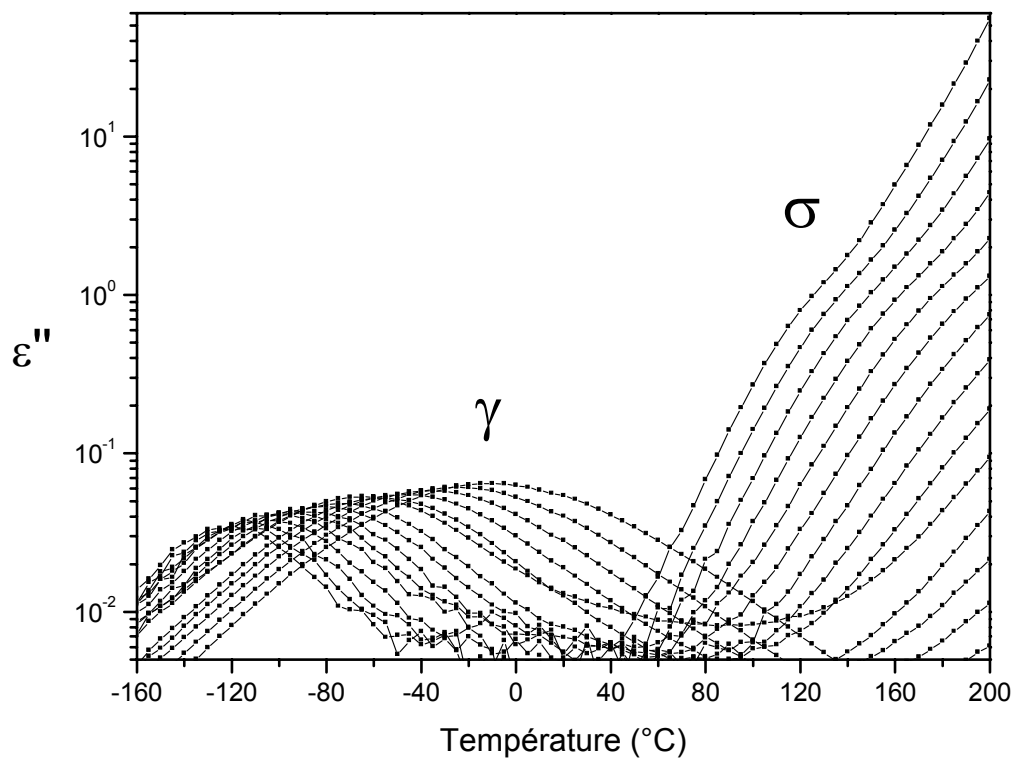


Figure III-23 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité de la cellulose en fonction de la température pour différentes fréquences comprises entre 0,1 et 10^6 Hz

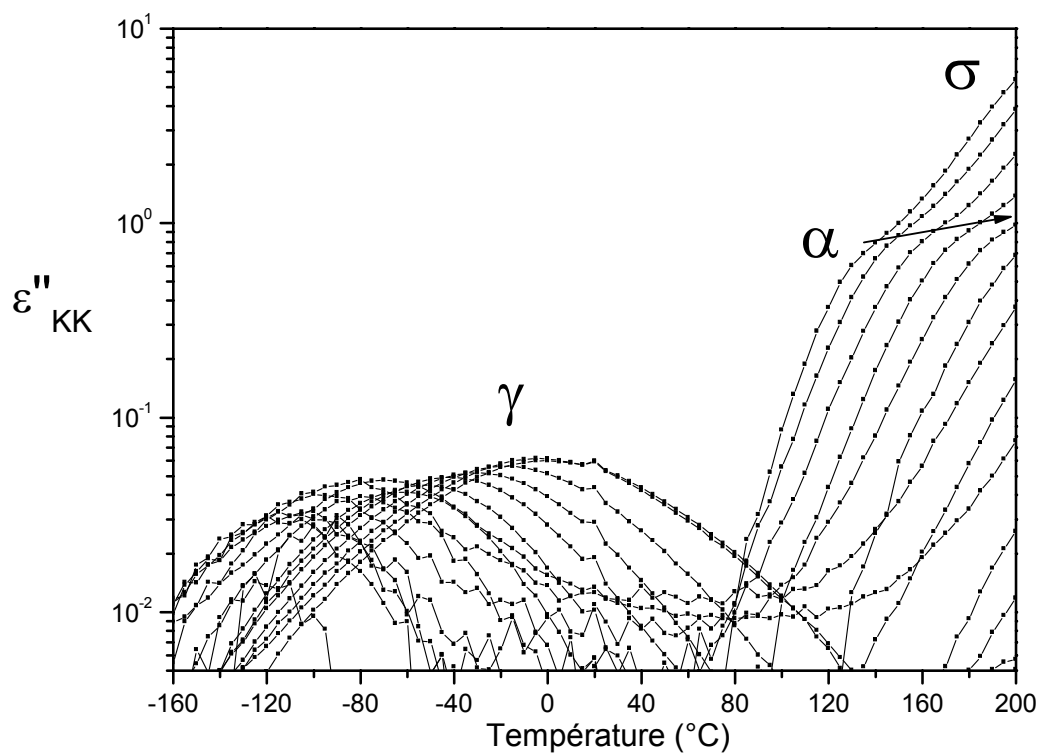


Figure III-24 : Résultats expérimentaux SDD de la figure III-23 traités par la méthode numérique de Kramer-Kronig [101]

Les résultats de trois types de manipulation (ACD, CTS et SDD) sont regroupés sur le diagramme d'Arrhenius de la figure III-25. L'alignement des points met en évidence un comportement de type Arrhenius pour le mode α de la cellulose à haute température. Les paramètres obtenus par SDD respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation sont $\Delta H = 111 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 25 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

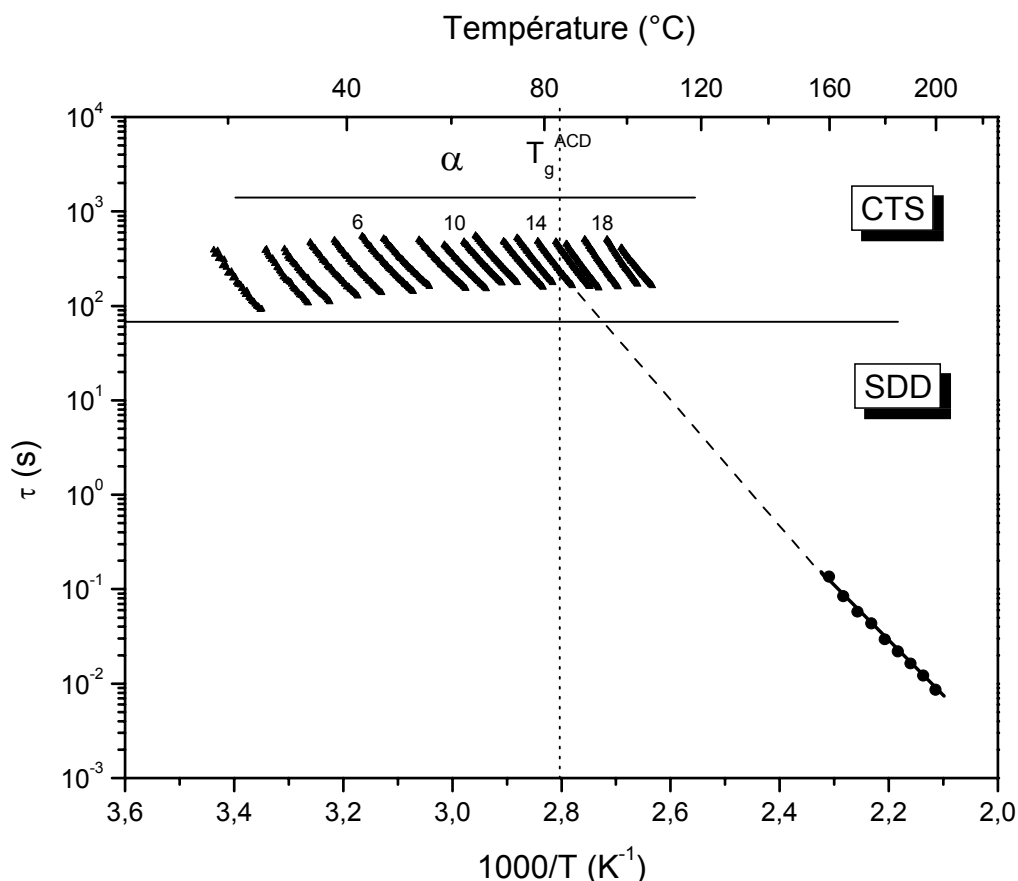


Figure III-25 : Corrélation T_g de la cellulose obtenue par ACD avec le mode de relaxation α de la cellulose obtenue à la fois par SDD et CTS

Les temps de relaxation correspondant au mode α en SDD sont extrapolés aux basses fréquences et nous observons une bonne adéquation avec les données CTS. De plus la température de transition vitreuse T_g de la cellulose est indiquée par une droite en pointillés. Cette droite, comme l'extrapolation des données SDD, intercepte le temps de relaxation CTS correspondant à l'élémentaire majoritaire de la figure III-6 (p.78). Cette cohérence montre que le mode α correspond bien à la manifestation diélectrique de la transition vitreuse.

III.2.2 Lignine

Comme pour la cellulose, la transition vitreuse de la lignine est influencée par la présence d'eau, son taux de polymérisation, le procédé d'extraction utilisé et l'origine de la plante dont la lignine a été extraite. Hatakeyama et al. ont déterminé une T_g de la lignine à 127°C et mis en évidence un vieillissement physique superposé au saut de capacité calorifique. Certains auteurs ont montré que la lignine à l'état vitreux admet des réarrangements inter et intrachaînes qui densifient le réseau macromoléculaire par la formation de liaisons physiques [128]. Par ACD, Corradini et al. ont situé la T_g de la lignine à 157°C [129], Kadla et al. à 108°C [130]. Hatakeyama conclut en comparant différents échantillons de lignine, que sa T_g dépend de l'espèce et de la méthode d'extraction [121]. Globalement toutes les lignines possèdent une température de transition vitreuse comprise entre 70°C et 170°C [6].

Les mesures ACD réalisées lors de cette étude ont mis en évidence une T_g de la lignine extraite de la canne à sucre à 72°C. De manière similaire à la cellulose, nous pouvons faire une corrélation entre la transition vitreuse de la lignine et le mode α . La figure III-26 montre la superposition du thermogramme ACD réalisé de 10°C à 115°C à 20°C/min avec celui de CTS réalisé dans la même gamme de température à 7°C/min.

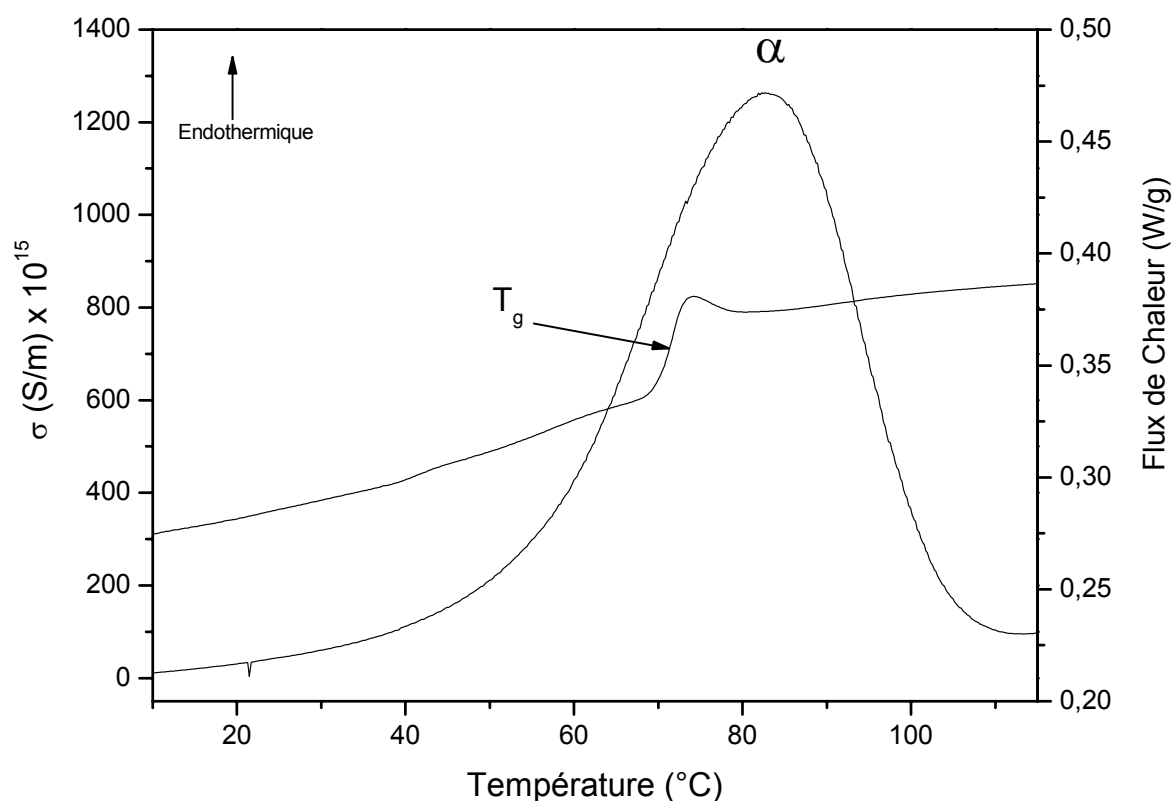


Figure III-26 : Comparaison des thermogrammes ACD et CTS de la lignine au 2^e balayage

Le point d'inflexion du saut de capacité calorifique est déterminé à 72°C et le maximum du mode de relaxation α à 83°C . L'écart en température déjà observé dans le cas de la cellulose est significatif puisqu'il est identique au degré près pour la T_g et le maximum du mode α .

Comme précédemment, les résultats de SDD de la lignine ont été traités avec la méthode numérique de Kramer-Kronig pour obtenir le mode de relaxation α de la lignine. La figure III-27 présente le diagramme d'Arrhenius de la lignine avec la corrélation des résultats d'ACD, CTS et SDD. Les données expérimentales montrent une relation linéaire entre les temps de relaxation τ et l'inverse de la température. Ce type de comportement traduit le caractère arrhenien du mode α de la lignine. Les paramètres d'activation obtenus par SDD respectivement l'enthalpie et l'entropie sont $\Delta H = 148 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 125 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

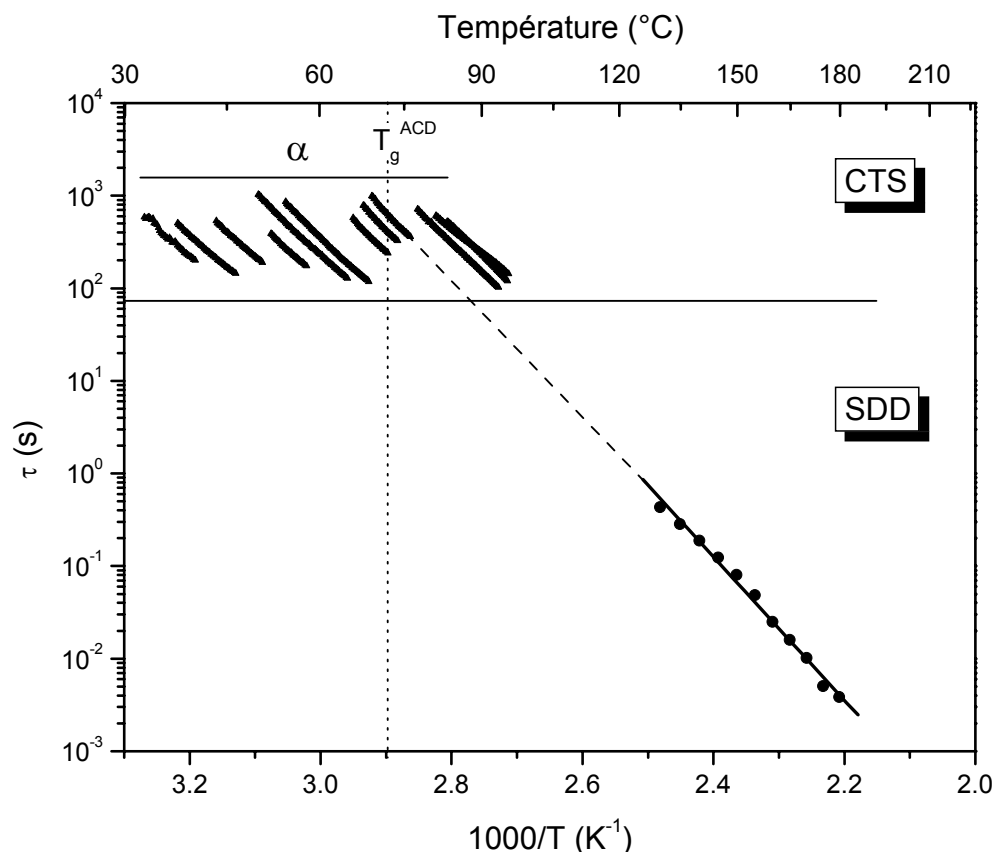


Figure III-27 : Corrélation T_g de la lignine obtenue par ACD avec le mode de relaxation α de la lignine obtenue à la fois par SDD et CTS

Nous observons une bonne corrélation entre les temps de relaxation du mode α de la lignine SDD avec l'extrapolation à basse fréquence des données CTS. La température de transition vitreuse mesurée en ACD est indiquée par une droite en pointillés : sa position relative par rapport à l'élémentaire maximum confirme que le mode α est la manifestation diélectrique de la transition vitreuse de la lignine.

Contrairement à une étude précédente sur la lignine extraite du bois de peuplier [131], le passage à la température de transition vitreuse n'engendre pas un changement du comportement de type Arrhenius au comportement de type VFT. Cette différence de comportement s'explique par la différence de nature de l'espèce étudiée.

Si nous comparons respectivement les diagrammes de compensation de la cellulose (Figures III-8 p.80 et III-13 p.85) et de la lignine (Figures III-17 p.89 et III-21 p.92), un phénomène d'anti-compensation est mis en évidence uniquement pour la cellulose

que ce soit pour les hautes ou basses températures. L'entropie et l'enthalpie suivent une fonction linéaire décroissante. Le système se trouve dans un état d'équilibre plus stable que l'état initial. Un comportement voisin a été mis en évidence par Chevalier et al. [132] au cours d'un vieillissement hygrothermique simulé de polyépoxy. Dans le cas du mode sous vitreux, la diffusion de quelques molécules d'eau à l'intérieur de l'adhésif permettait de bloquer les entités hydroxyéther, ces dernières s'ordonnaient lors de la sollicitation. Cependant sur la cellulose, la relaxation primaire est aussi affectée et une autre étude [81] n'observe pas ce phénomène d'anti-compensation.

Deux hypothèses peuvent expliquer ce phénomène : les molécules d'eau fixées sur les groupements polaires libèrent ces sites pendant la montée en température de l'échantillon. Les groupements polaires libérés peuvent alors former des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires qui ordonnent la structure du polymère. La deuxième hypothèse est que la mise en œuvre influence l'ordre dans la structure du polymère.

III.3 Relaxations secondaires

La plupart des travaux récents réalisés sur les relaxations diélectriques des polymères synthétiques par spectroscopie diélectrique dynamique sont relativement consensuels. Par contre, pour les polymères naturels plus complexes comme les polysaccharides pariétaux, les résultats varient considérablement d'une étude à l'autre. Certains auteurs comme Saad [133,134] ne mettent en évidence qu'un seul mode de relaxation pour la cellulose et ses dérivés situé entre -60°C et 120°C , attribué à la mobilité des groupements hydroxyméthyle ($-\text{CH}_2\text{OH}$). D'autres comme Einfeldt définissent quatre modes de relaxation pour la plupart des polysaccharides dont la cellulose [75-79]. Ces modes sont classés dans l'ordre des températures croissantes :

- un mode γ lié à la mobilité des groupements latéraux de type $-\text{OH}$ et $-\text{CH}_2\text{OH}$ pour la cellulose,
- un mode de relaxation β associé à la mobilité locale des segments de chaîne via les liaisons glycosidiques. Ces deux derniers modes sont observés entre -135°C et 20°C ,
- un mode β_{wet} observé pour tous les polysaccharides contenant de l'eau dans la gamme de température comprise entre 0 et 60°C ; celui-ci disparaît après une déshydratation intense,
- un phénomène entre 80°C et 180°C , noté σ , lié à la mobilité des porteurs de charges.

La manifestation diélectrique de la transition vitreuse n'est pas observée par spectroscopie diélectrique dynamique, à cause du phénomène de conductivité σ qui masque la réponse dipolaire du polymère et l'utilisation du module diélectrique $M^*(\omega)$ ne résout pas le problème. Même si une méthode d'analyse des spectres diélectriques publiée par Steeman et van Turnhout [135] permet de mettre en exergue dans certains cas un mode α sans conductivité, le traitement du signal à basse fréquence et haute température peut être problématique. L'analyse des courants thermostimulés permet d'éviter cet inconvénient.

L'étude combinée CTS - SDD a été réalisée aux basses températures. En effet, pour la lignine le mode de relaxation β est observé par les deux techniques ; l'analyse des résultats est reportée dans le diagramme d'Arrhenius de la figure III-28. Les temps de relaxation correspondant au mode β en SDD sont extrapolés aux basses fréquences et nous observons une bonne adéquation avec les données CTS. Cette relaxation peut être liée aux mouvements localisés de groupements polaires du polymère.

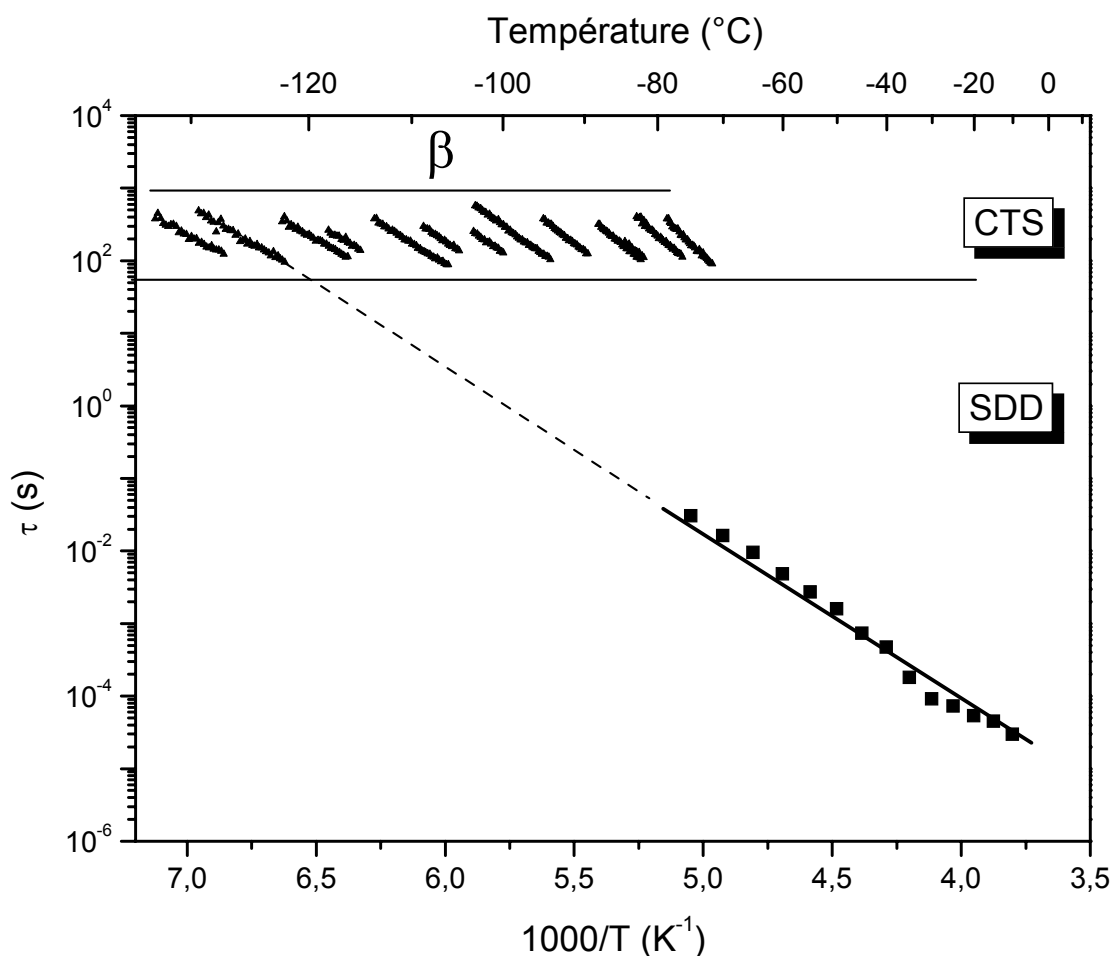


Figure III-28 : Combinaison des résultats de SDD et CTS pour le mode de relaxation β de la lignine

La cellulose a aussi été étudiée par ces deux techniques diélectriques et contrairement à la lignine un comportement différent est à noter. En effet un mode à basse température est observé en spectroscopie diélectrique dynamique alors que deux modes de relaxation sont mis en évidence en CTS. Suivant les températures croissantes ils sont désignés par les modes γ et β .

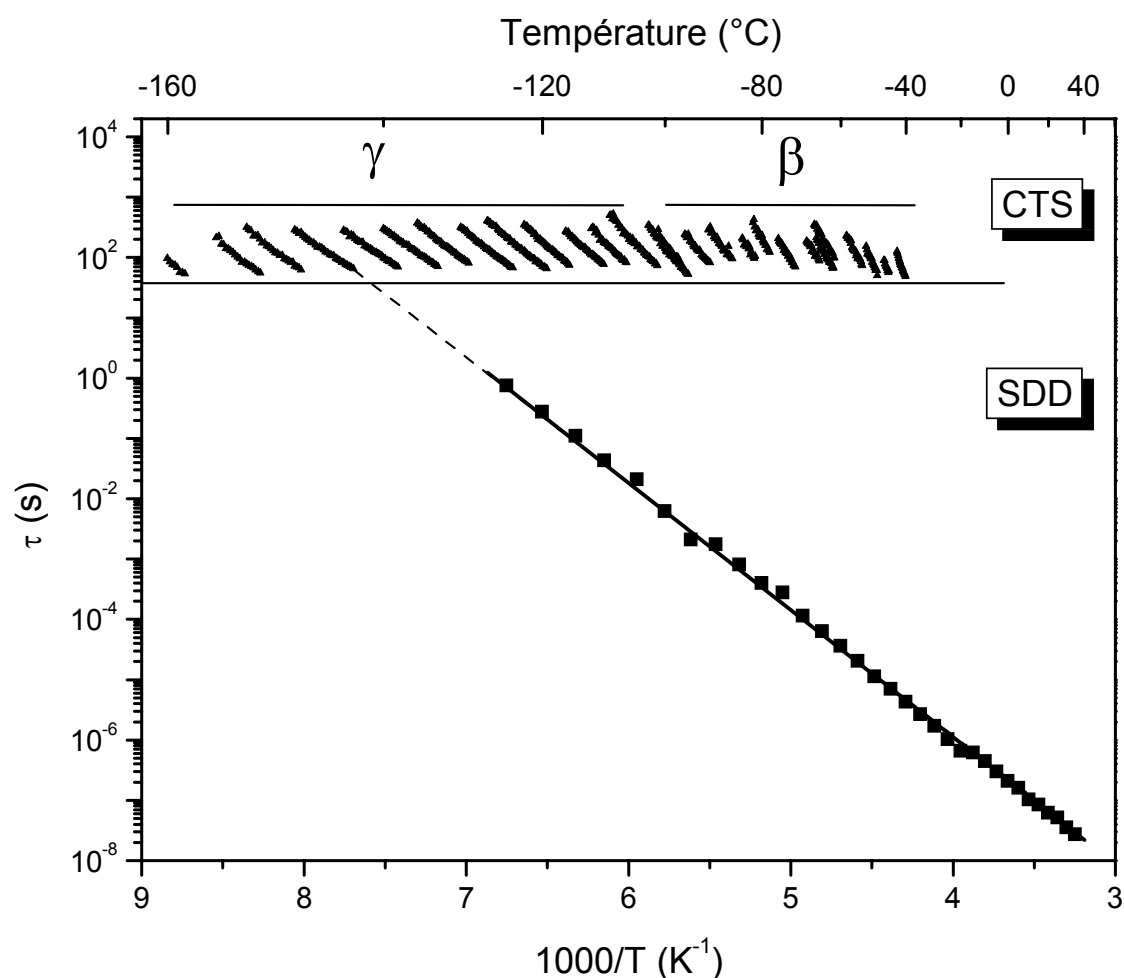


Figure III-29 : Comparaison des diagrammes d'Arrhenius de la cellulose à l'état déshydraté obtenus par CTS et SDD

L'extrapolation des temps de relaxation obtenus par SDD est représentée sur la figure III-29. Cette corrélation montre que le mode large observé par SDD correspond au mode de relaxation γ . Ce dernier est assigné à la mobilité locale des groupements latéraux de la cellulose $-OH$ et $-CH_2OH$. Le mode secondaire β attribué à la mobilité locale des séquences de chaînes du polymère n'est pas observé en SDD à l'état déshydraté mais uniquement en CTS. La résolution de la technique des courants thermostimulés a été déterminante pour la mise en évidence de la structure fine de ces relaxations secondaires.

Le chapitre suivant consacré à l'étude de l'influence de l'hydratation sur les propriétés physiques de la cellulose apportera une interprétation à l'échelle moléculaire.

Chapitre IV

Influence de l'Hydratation sur les Polymères Pariétaux

I. Transition vitreuse de la cellulose et plastification.....	108
II. Relaxations de la cellulose et hygrométrie	109
III. Discussion	117
III.1 Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire délocalisée	117
III.2 Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire localisée	121

I. Transition vitreuse de la cellulose et plastification

La cellulose compactée sous forme de pastille a été étudiée en analyse calorimétrique diatherme avec une vitesse de chauffe de 20°C/min. L'évolution du flux de chaleur en fonction de la température est représentée sur la figure IV-1 de 30°C à 120°C, à différents taux d'hydratation pour la première montée.

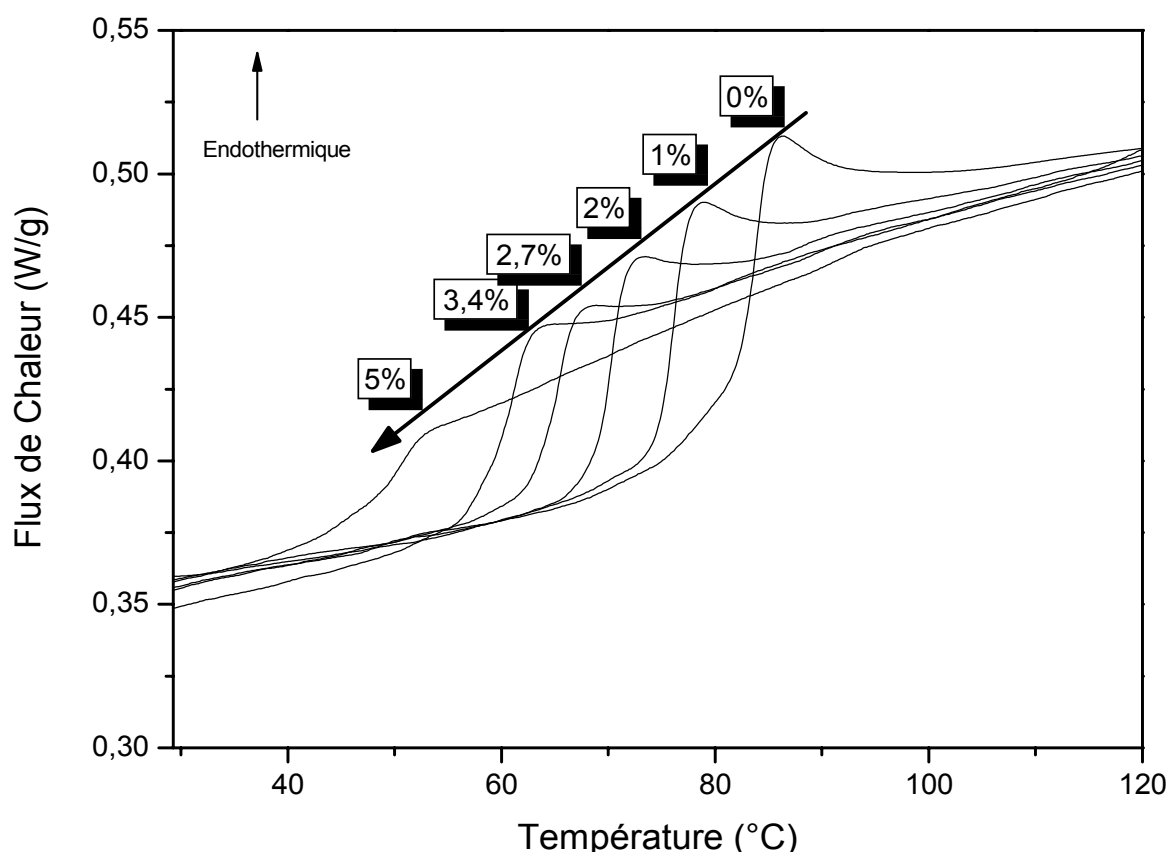


Figure IV-1 : Thermogrammes ACD de la cellulose hydratée de 30°C à 120°C enregistrés à une vitesse de 20°C/min. Le taux hygrométrique h est indiqué sur chaque thermogramme.

La température de transition vitreuse T_g de la cellulose et le saut de flux de chaleur diminuent fortement quand l'hydratation augmente. Cette évolution est appelée plastification de la transition vitreuse. Certaines liaisons hydrogène intra et intermoléculaires de la phase amorphe sont remplacées par des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau qui s'intercalent entre les chaînes du polymère augmentant ainsi le volume libre. Les réarrangements de segments de chaîne se font alors à une température plus basse. La position en température de la transition vitreuse diminue d'environ 34°C. De plus, lorsque le nombre de molécules d'eau augmente le saut de flux de chaleur décroît de 0,28 J.g⁻¹.°C⁻¹ à 0,10 J.g⁻¹.°C⁻¹.

II. Relaxations de la cellulose et hygrométrie

La permittivité diélectrique complexe de la cellulose a été étudiée par spectroscopie diélectrique dynamique. Plusieurs expériences sont menées sur des pastilles de cellulose avec différentes teneur en eau, dans le but de mettre en évidence l'influence de cette dernière sur la réponse diélectrique (cf. Figure II-3 p.58 & Annexes IV-1 p.192, IV-2 p.193). La figure IV-2 montre la représentation tridimensionnelle de la partie imaginaire de la permittivité d'échantillon hydraté à 7%, mesurée de manière isotherme pour des températures de -160 à 200°C par pas de 5°C, sur une gamme de fréquence de $[10^{-1}; 10^6]$ Hz.

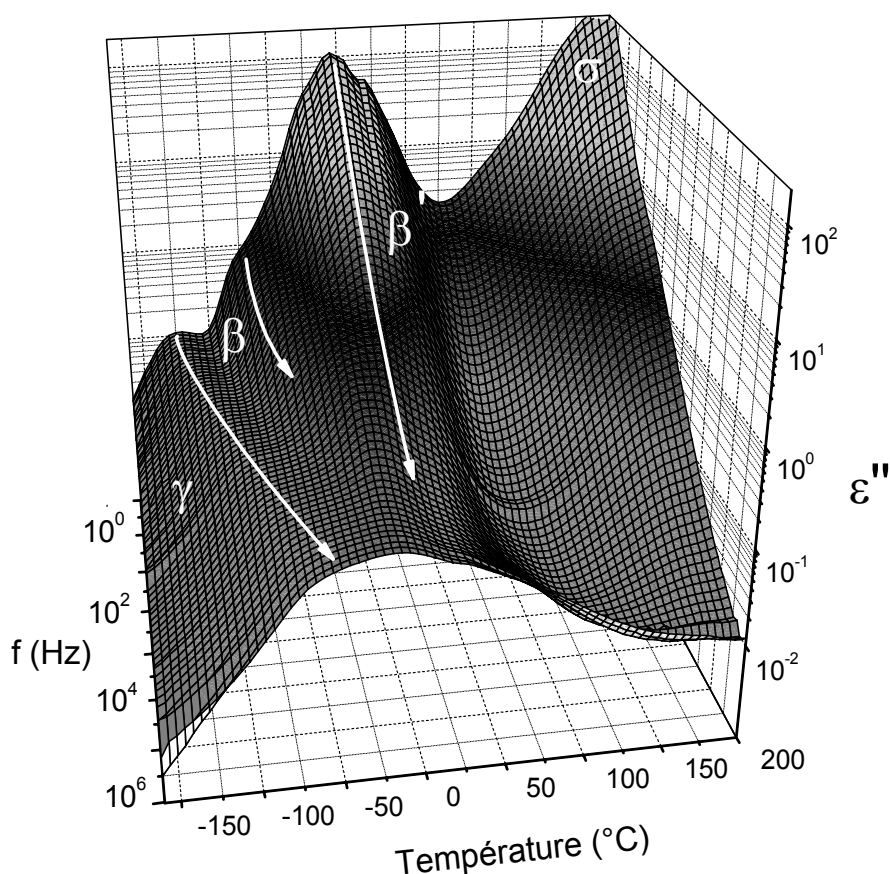


Figure IV-2 : Représentation tridimensionnelle de la partie imaginaire de la permittivité complexe de la cellulose pour un taux d'hydratation de 7%

Quatre phénomènes diélectriques sont mis en évidence par la figure IV-2 : à basse température deux modes de relaxation γ et β , à plus haute température un mode de relaxation quasi-isotherme et un phénomène de conductivité appelés respectivement β' et σ . La manifestation diélectrique de la transition vitreuse α est masquée par le phénomène de conductivité. Le facteur de pertes diélectriques $\tan(\delta)$ est représenté en fonction de la température sur la figure IV-3 de 0 à 7% d'eau dans la cellulose. Tous les modes de relaxation énoncés précédemment ne sont pas visibles dans chaque état d'hydratation. Le mode γ et la conductivité σ apparaissent sur les quatre thermogrammes de la figure IV-3. En présence d'eau, l'intensité du mode γ augmente et le phénomène de conductivité devient plus important.

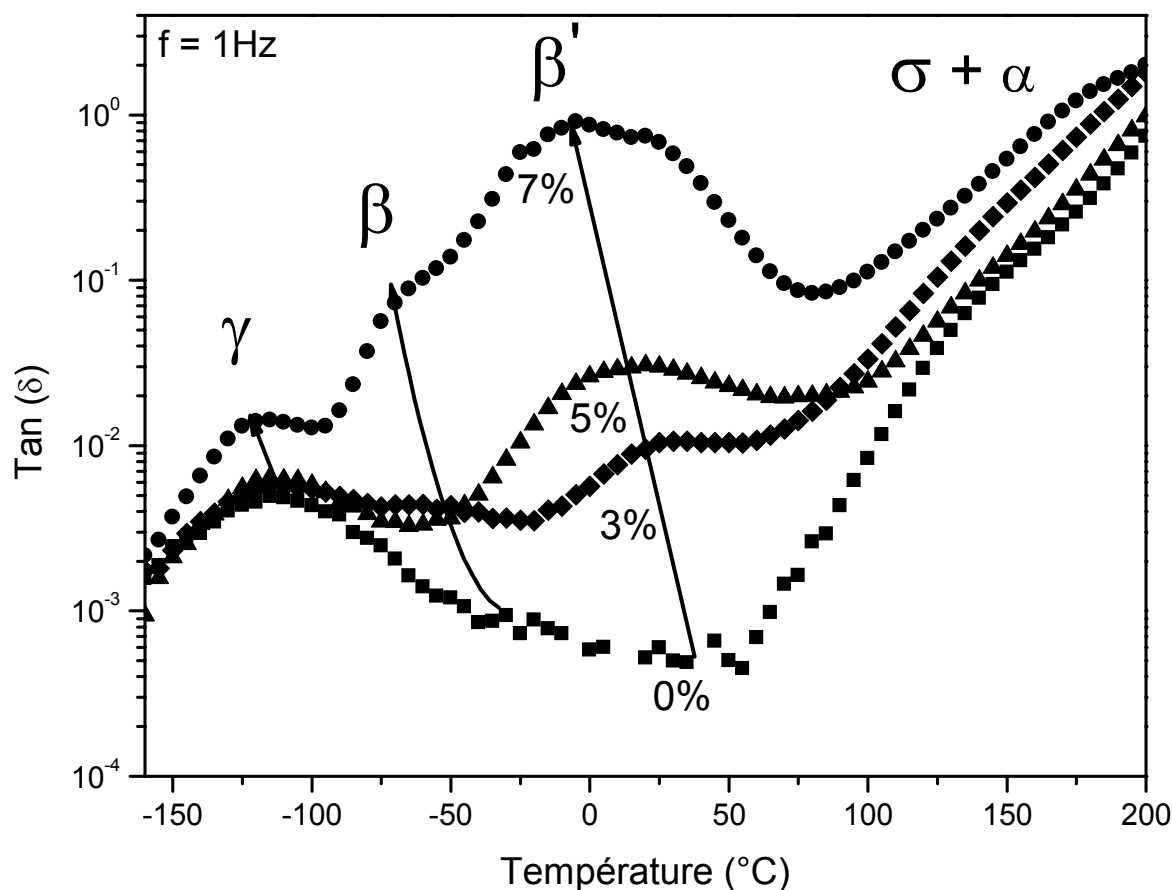


Figure IV-3 : Facteur de pertes diélectriques en fonction de la température (-160°C à 200°C) à 1 Hz pour la cellulose à différents taux d'hydratation

Le mode γ est associé à la mobilité moléculaire des groupements latéraux (-OH et -CH₂OH) [73-79] et le nombre de liaisons hydrogène créé entre ces groupements et les molécules d'eau est dépendant de la quantité en eau. Cependant l'influence de l'hydratation s'observe dans un premier temps de manière plus significative sur les

deux modes β . Le mode β' est intimement lié à l'eau puisqu'il n'est détectable qu'en présence de celle-ci. Dès 3% d'eau on peut observer ce mode, dont l'intensité augmente également avec une teneur en eau croissante. Ce mode quasi-isotherme est un phénomène diélectrique qui peut être associé aux interactions « polymère/eau ». Le mode β n'est observable par spectroscopie diélectrique dynamique que pour deux pourcentages en eau distincts qui sont respectivement 3 et 7%. L'origine moléculaire de ce mode est la mobilité des segments de chaînes via les liaisons glucosidiques. Cependant il est difficile de conclure sur sa relation vis à vis de l'hydratation puisque ce mode est masqué soit par le mode γ à 3% d'eau, soit par le mode β' à 7% d'eau,

Les temps de relaxation τ des deux modes de relaxation secondaires γ et β sont extraits des données diélectriques et reportés dans un diagramme d'Arrhenius (Figure IV-4). Ils sont bien ajustés par une loi d'Arrhenius mais leur comportement respectif est dépendant de l'hydratation.

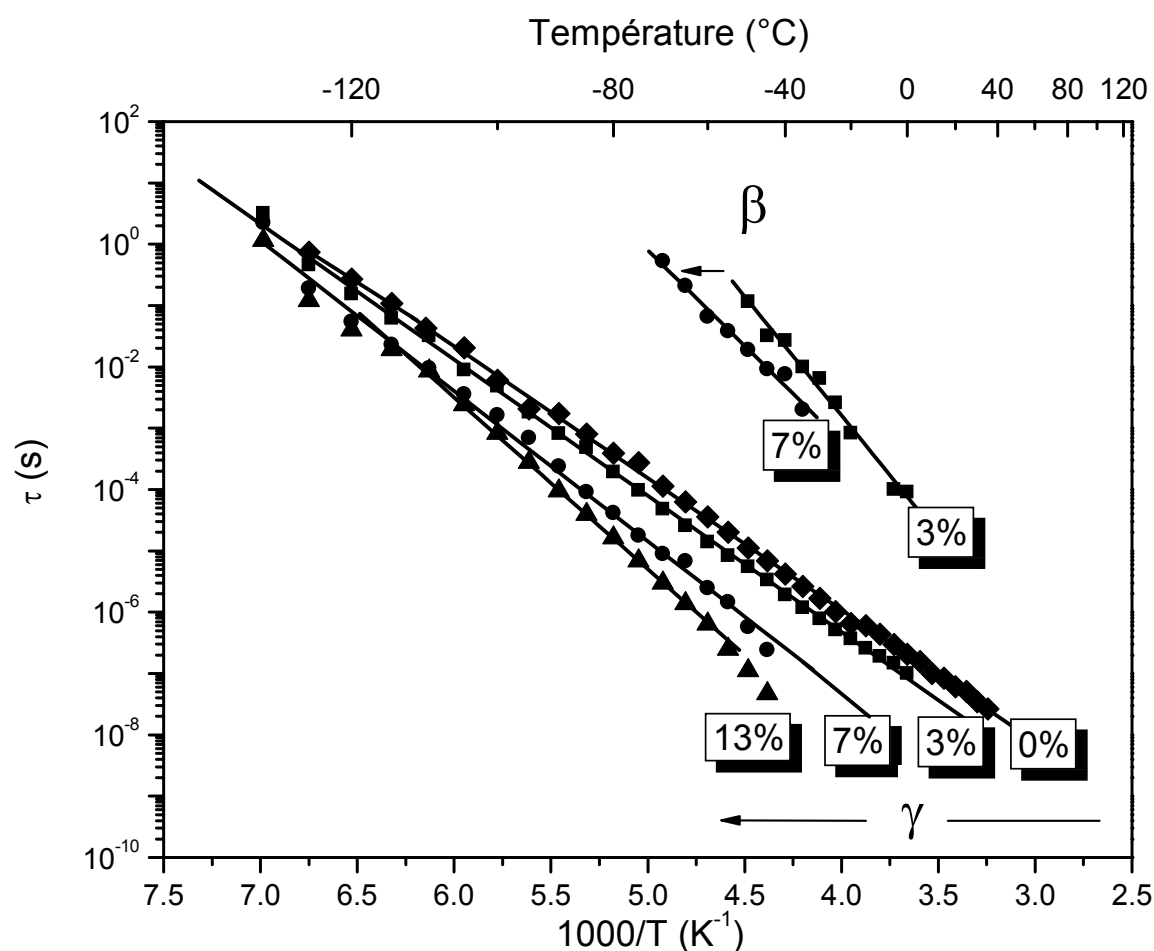


Figure IV- 4 : Diagramme d'Arrhenius des modes de relaxation aux basses températures obtenu par SDD pour la cellulose à différents taux d'hydratation

Pour le mode γ , la série des temps de relaxation correspondant à différents taux d'hydratation converge en un point unique à basse température $T_c = -130^\circ\text{C}$ et $\tau_c = 2,4$ s. Il existe un point où le comportement relaxationnel est indépendant de la présence d'eau. Pour le mode γ , la série des temps de relaxation correspondant à différents taux d'hydratation suit une loi d'anti-compensation. Par conséquent nous pouvons conclure que ce phénomène observé au chapitre précédent sur les diagrammes de compensation du mode α et du mode γ est lié à l'hydratation (cf. Chapitre 3 Figures III-8 p.80 et III-13 p.85). Les groupements polaires libérés des molécules d'eau lors de la déshydratation peuvent former des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires ordonnant ainsi la structure du polymère. Les paramètres d'activation sont reportés sur les figures IV-5 et IV-6. L'enthalpie d'activation du mode γ augmente avec l'hydratation contrairement à celle du mode β qui décroît.

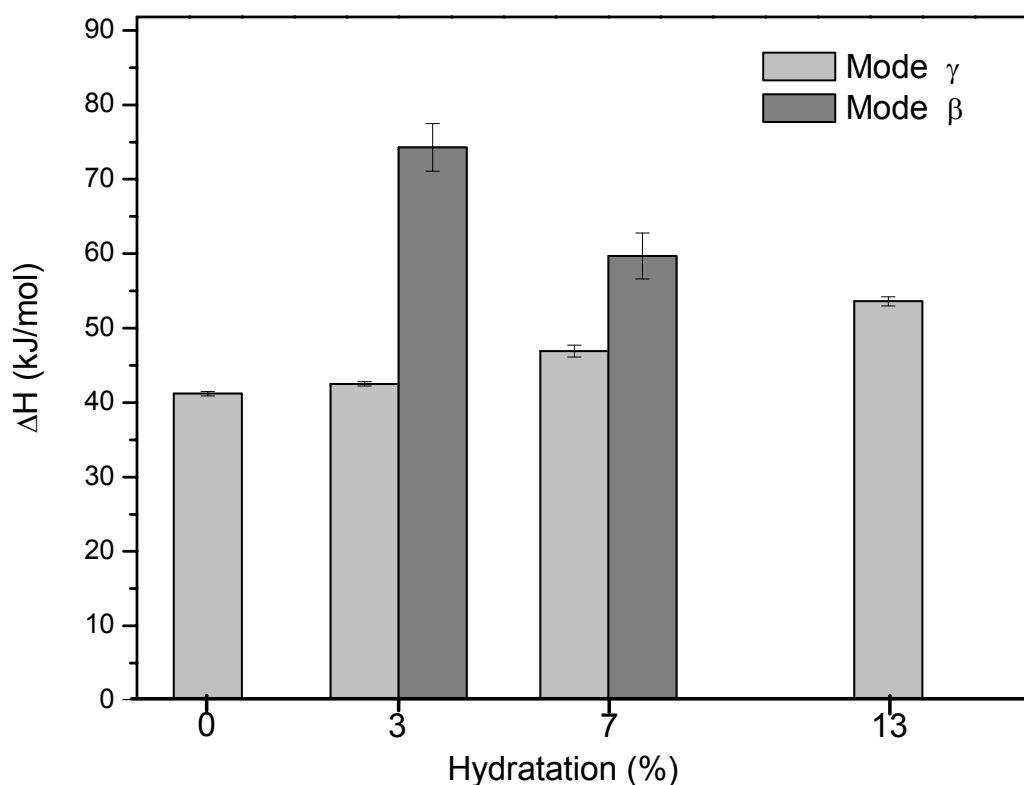


Figure IV-5 : Enthalpie d'activation des modes de relaxation diélectrique γ et β pour différents taux hygrométriques

L'augmentation de l'enthalpie d'activation traduit une diminution de la mobilité moléculaire. Grâce aux groupements hydroxyle et hydroxyméthyle des complexes eau-polymère se forment et les liaisons hydrogène diminuent la mobilité de ces

complexes. Alors que pour le mode β , la diminution de son enthalpie d'activation avec l'hydratation indique au contraire une augmentation de la mobilité moléculaire. Les molécules d'eau déstructurent le réseau de liaisons hydrogène existant, augmentant le volume libre entre les chaînes. Parallèlement l'entropie d'activation possède le même comportement que l'enthalpie pour ces modes à basse température. Elle augmente avec l'hydratation pour le mode γ et diminue pour le mode β .

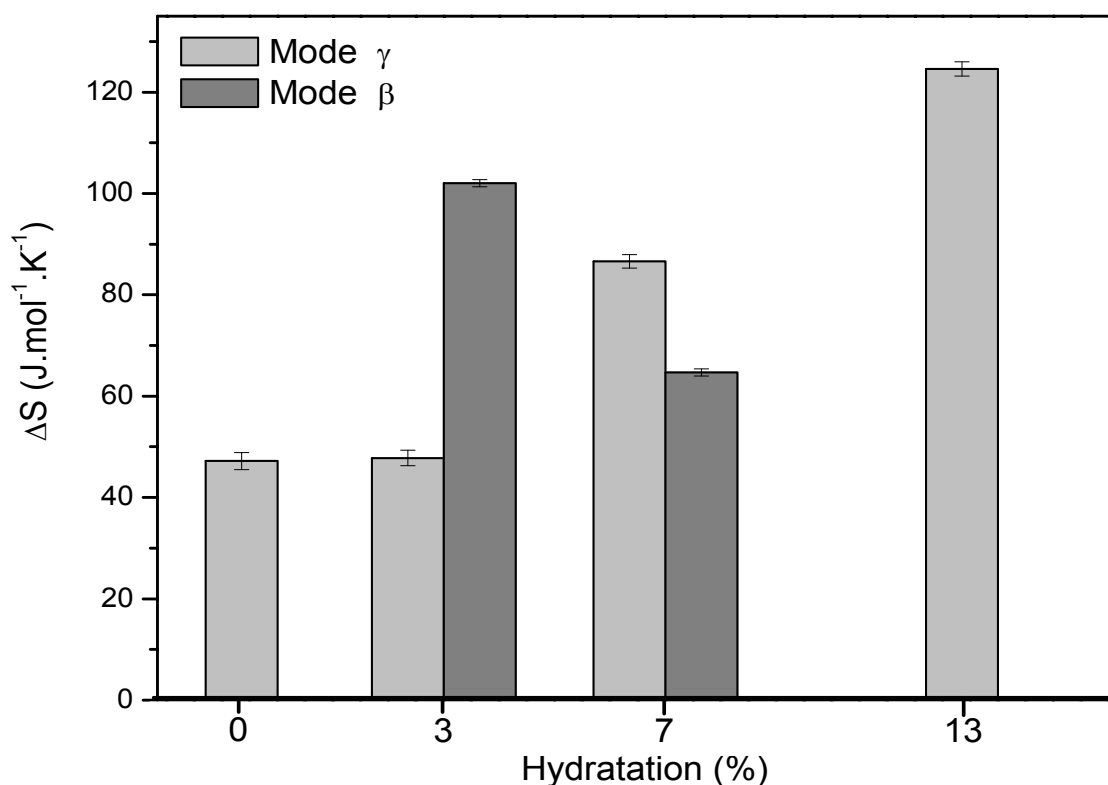


Figure IV-6 : Entropie d'activation des modes de relaxation diélectrique γ et β pour différents taux hygrométriques

L'entropie est associée au « désordre » de l'environnement de l'entité relaxante. Quand elle augmente, le système constitué par les complexes polymère-eau au niveau des groupements hydrophiles se désordonne localement avec l'introduction de nouvelles molécules d'eau. Au niveau des segments de chaînes le phénomène inverse se produit l'entropie diminue. L'introduction de nouvelles molécules d'eau tend à ordonner les chaînes au niveau des liaisons glucosidiques.

Ces analyses dynamiques diélectriques sont complétées par des études à plus basse fréquence par courants thermostimulés. La figure IV-7 présente le courant de dépolarisation normalisé σ en fonction de la température pour quatre pourcentages d'hydratation de la cellulose. Le champ électrique appliqué à 0°C pour chaque thermogramme est de 1,2 MV/m. Les mesures ont été réalisées de -160°C à -10°C avec une rampe en température de 7°C/min. Dans la région des basses températures et pour 0% d'hydratation deux modes de relaxations sont observés. Le mode γ assigné à la mobilité moléculaire des groupements latéraux est situé à -135°C et le mode β attribué à des mouvements localisés de petites séquences de la chaîne principale se trouve à -65°C. Contrairement au mode de relaxation β , la température du maximum du mode de relaxation γ augmente avec l'hydratation pour passer de -135°C pour 0% à -120°C pour 7%. Nous observons un rapprochement de ces deux modes de relaxation quand l'hydratation augmente.

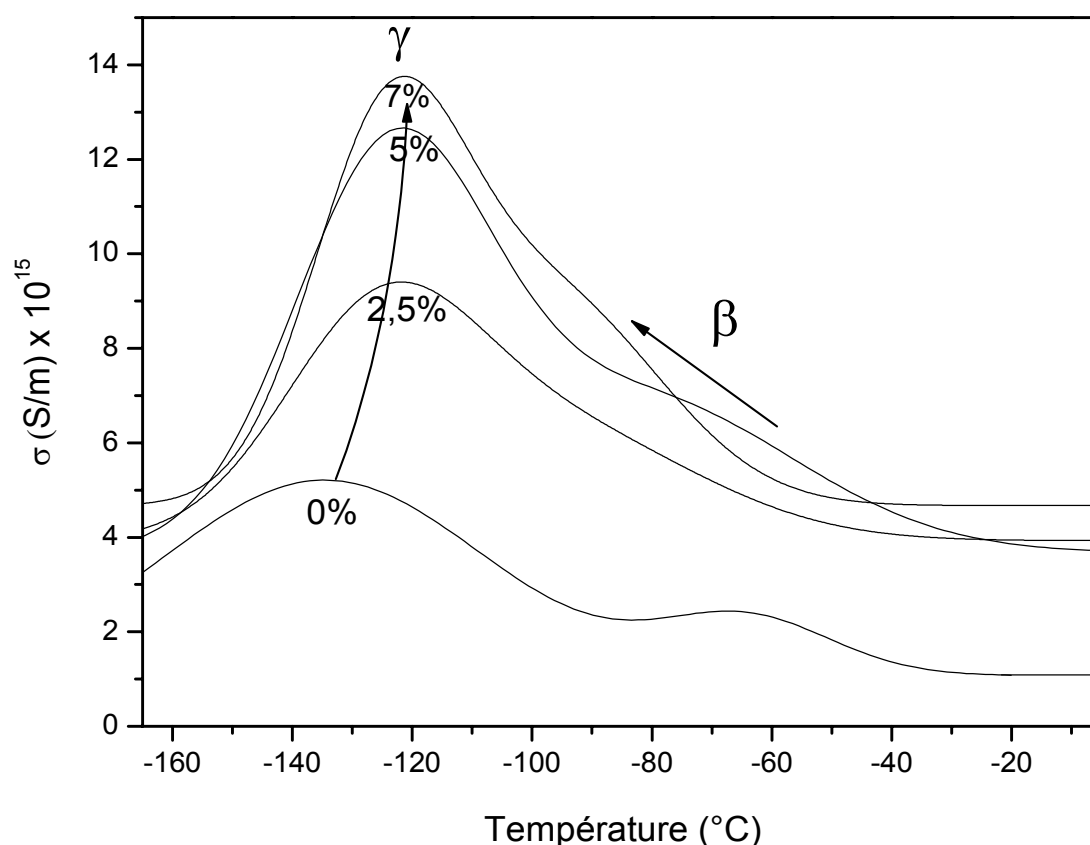


Figure IV-7 : Thermogrammes CTS complexes de la cellulose dans quatre états d'hydratation de -160 à -10°C avec une vitesse de balayage de 7°C /min

Ces résultats sont cohérents avec ceux de SDD ; l'hydratation joue le rôle d'un anti-plastifiant pour le mode γ et de plastifiant pour le mode β . Chaque thermogramme complexe a été déconvolué expérimentalement en thermogrammes élémentaires et l'analyse de chaque série nous permet de connaître l'évolution de l'enthalpie d'activation des modes de relaxation γ et β en fonction de la température dans les quatre états d'hydratation de la cellulose (Figure IV-8). L'influence de l'hydratation sur les modes de relaxation aux basses températures s'observe par la diminution de la gamme en température des deux modes de relaxation mais aussi par la diminution des valeurs d'enthalpie d'activation.

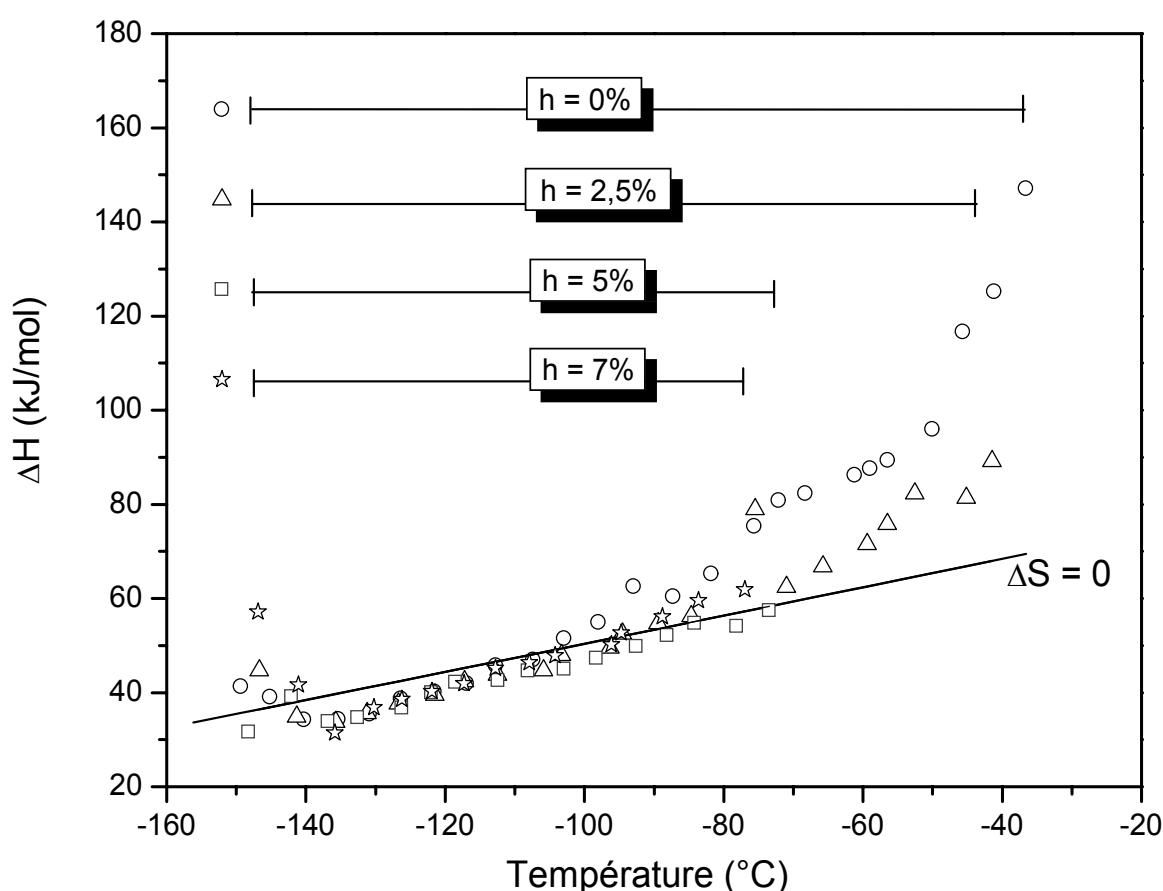


Figure IV-8 : Enthalpie d'activation en fonction de la température des thermogrammes élémentaires des modes de relaxation aux basses températures de la cellulose dans quatre états d'hydratation

La diminution de la gamme en température est la conséquence directe du comportement antagoniste des modes γ et β vis-à-vis de l'hydratation. Ces deux modes se rapprochent puisque γ se décale vers les hautes températures et β vers les basses températures. De plus quand le taux hygrométrique augmente la gamme

en enthalpie diminue. Le comportement coopératif du mode β est fortement dépendant de l'hydratation. Pour des teneurs en eau entre 0 et 2,5 % le mode β est caractérisé par un comportement coopératif, alors que pour des pourcentages d'hydratation compris entre 2,5 et 7% un comportement non coopératif est mis en évidence puisque les valeurs d'enthalpie d'activation restent proches de la « droite de Starkweather ». Cette évolution est attribuée au développement du réseau de liaisons hydrogène qui tend à localiser la mobilité moléculaire au niveau des liaisons glucosidiques. Dans le diagramme de compensation de la figure IV-9 (Annexes IV-3 p.193, IV-4 & IV-5 p.194) nous pouvons observer 3 événements distincts pour chaque état d'hydratation : un phénomène d'anti-compensation suivi de deux phénomènes de compensation. Nous reviendrons ultérieurement sur le phénomène d'anti-compensation.

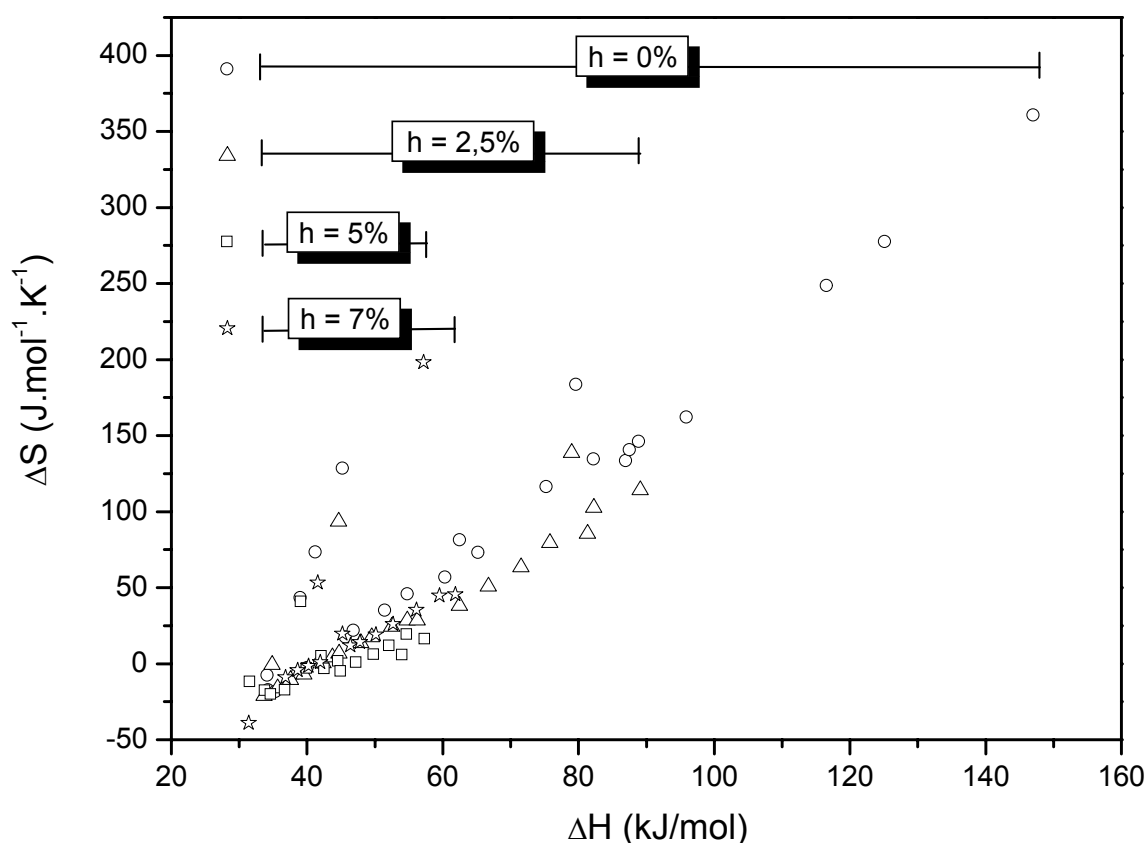


Figure IV-9 : Diagramme de compensation des modes de relaxation secondaire γ et β de la cellulose dans quatre états d'hydratation

Concernant les deux compensations celle correspondant aux valeurs enthalpiques et entropiques les plus faibles est assignée au mode γ et l'autre associée au mode β . L'augmentation de l'hydratation diminue les gammes d'enthalpie et entropie. Par CTS

la diminution de la gamme d'enthalpie d'activation de la cellulose sous l'effet de l'hydratation nous permet de conclure que la longueur des séquences de chaîne mobile décroît. L'augmentation de la densité des liaisons hydrogène conduit à une mobilité non coopérative plus localisée.

III. Discussion

III.1 Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire délocalisée

Les propriétés des biopolymères sont dépendantes de leur teneur en eau liée à la densité en groupements hydrophiles [123]. Dans la littérature, trois types d'eau sont distingués: l'eau libre, l'eau faiblement liée et l'eau liée [47-50]. Cette étude s'intéresse plus particulièrement à l'influence de l'eau liée sur les propriétés physiques du polymère. La figure IV-1 (p.108) est en accord avec la littérature puisqu'elle met en évidence une plastification de la transition vitreuse par l'hydratation du matériau. La température de transition vitreuse diminue quand le pourcentage d'hydratation augmente. La gamme de température à laquelle nous observons ce phénomène entre 40°C et 90°C, permet de conclure que l'eau fortement liée au polymère est responsable de ce phénomène de plastification. En effet, seules les molécules d'eau fortement liées à la cellulose par des liaisons hydrogène sont toujours présentes à ces températures.

L'originalité de la figure IV-1 (p.108) porte sur deux points. Le saut de capacité calorifique associé à la transition vitreuse de la cellulose a été mis en évidence. Ce dernier est difficile à déterminer comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent. L'observation expérimentale du phénomène de plastification de la transition vitreuse à faible taux d'hydratation constitue un résultat expérimental que peu d'auteurs sont parvenus à montrer [47]. L'ensemble des résultats expérimentaux et les calculs théoriques sur la température de transition vitreuse de la cellulose en fonction du taux d'hygrométrie sont reportés sur la figure IV-10. Les courbes en traits pleins sont les calculs théoriques réalisées par Salmen et Back [123] selon l'approche de Kaelbe afin de calculer l'effet des plastifiants sur la température de transition vitreuse des systèmes polymère-plastifiant. L'approche de Kaelbe lie la température de transition vitreuse à l'énergie cohésive des molécules. Les points de la figure IV-10 sont des mesures expérimentales de la cellulose réalisées par analyse calorimétrique diatherme pour différentes études. L'originalité de cette étude a été de mettre en

évidence un comportement spécifique de la cellulose pour de faibles teneurs en eau de 0 à 5%. Cette figure met en évidence l'importance de la cristallinité de l'échantillon puisque l'évolution de la T_g de la cellulose est dépendante à la fois de sa teneur en eau mais également de son taux de cristallinité.

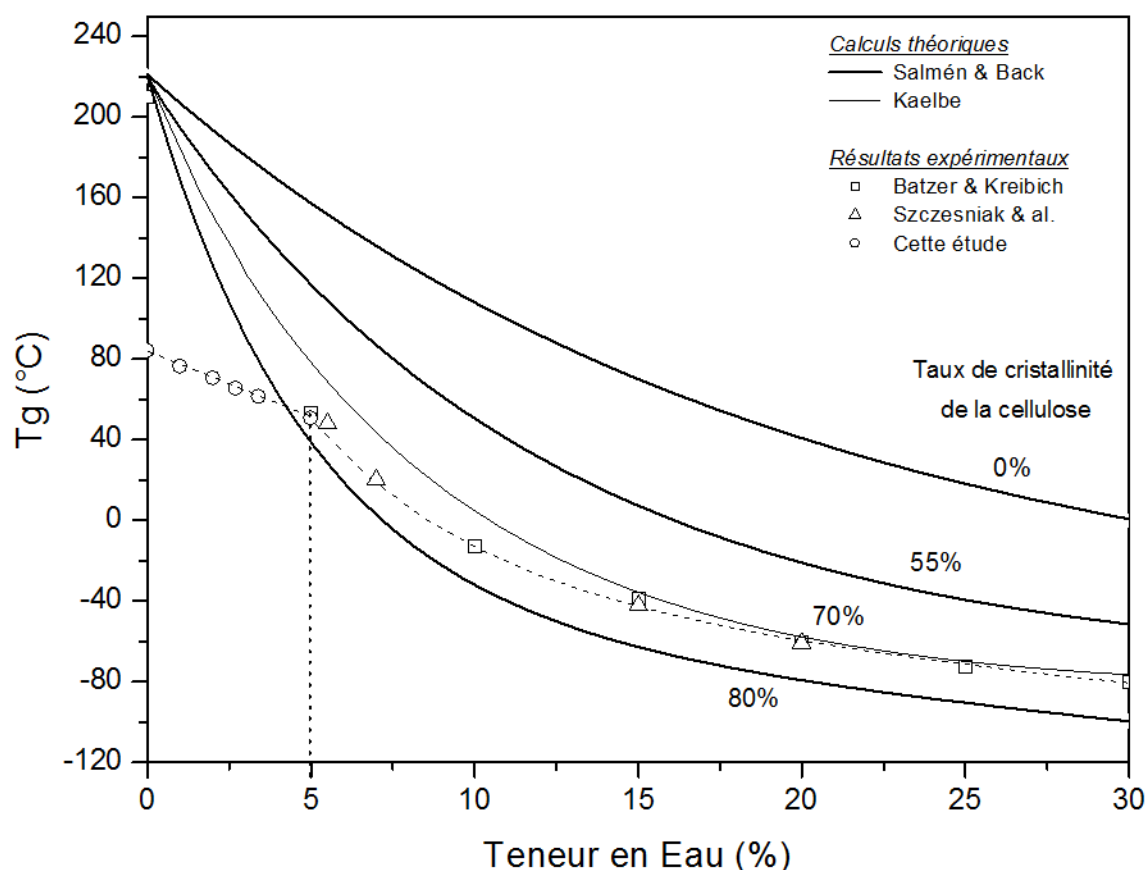


Figure IV-10 : Température de transition vitreuse de la cellulose à 0%, 55%, 70% et 80% cristalline en fonction du taux d'hydratation. Les lignes en traits pleins représentent les calculs théoriques et les points sont les données expérimentales de différentes études [47, 122, 123]

Un écart est mis en évidence entre les calculs théoriques et les données expérimentales. A 70% de cristallinité la T_g suit deux comportements : une évolution linéaire de 0 à 5% et une évolution courbe au-delà de 5%, qui tend à rejoindre le modèle de Kaelbe. D'après Szczesniak [47], l'écart observé entre la théorie et l'expérience quand on diminue la teneur en eau est due à une augmentation du nombre d'interactions entre les chaînes du polymère accroissant sa rigidité. Si on diminue le nombre de molécules d'eau, le nombre de liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et le polymère diminue, des sites polaires vont se libérer et

permettre la formation de liaisons hydrogène intra et inter moléculaires qui va rigidifier la chaîne. Il est intéressant de noter que pour des pourcentages supérieurs à 15% d'eau, la détermination de la T_g de la cellulose suivie d'un ajustement par le modèle de Kaelbe pourrait être une bonne méthode pour évaluer le taux de cristallinité de la cellulose.

Le phénomène de plastification de la transition vitreuse par l'hydratation a été observé en courant thermostimulé par Jafarpour et al. [131]. Les thermogrammes de la figure IV-11 présentent le mode de relaxation principal α de la cellulose en poudre dans deux états d'hydratation. Le champ appliqué à 130°C pour réaliser ces thermogrammes est de 300 kV/m. Les mesures ont été effectuées de 30 °C à 130°C avec une vitesse de montée en température de 7°C/min.

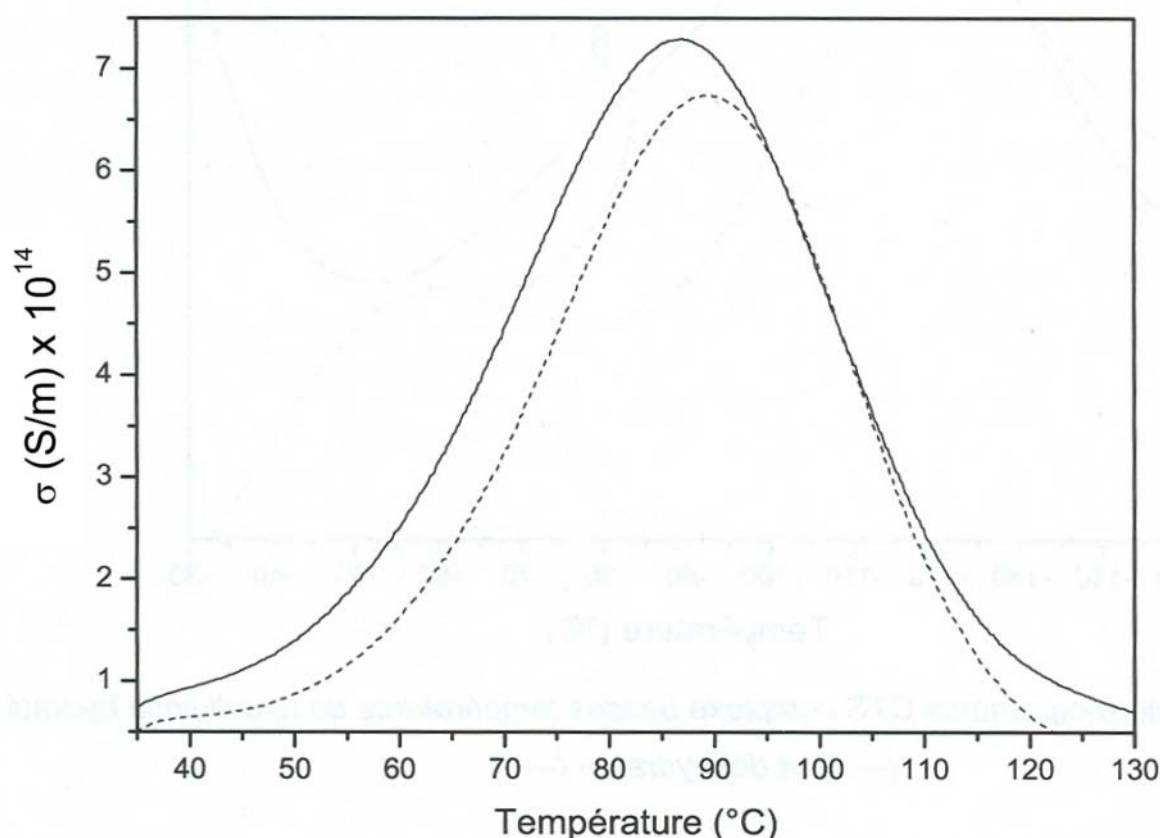


Figure IV-11 : Comparaison des thermogrammes CTS complexes de la cellulose respectivement à 0% [----] et 5% [—] d'eau [131]

Un décalage vers les basses températures de ce mode de relaxation est mis en évidence pour l'échantillon hydraté. L'intensité du mode est également plus importante. Le mode α étant associé à la manifestation diélectrique de la transition vitreuse, nous pouvons en déduire que cette dernière est plastifiée par l'eau.

Néanmoins l'analyse des thermogrammes élémentaires de l'échantillon hydraté dans cette gamme de température reste pour le moment techniquement difficile ; lorsque l'échantillon est soumis à plusieurs cycles en température il est thermodynamiquement instable puisqu'il perd progressivement son hydratation.

La lignine de peuplier a été étudiée par les courants thermostimulés [131]. Les thermogrammes de la figure IV-12 montrent le mode de relaxation primaire α de la lignine dans deux états d'hydratation. L'état hydraté correspond à un échantillon stocké aux conditions ambiantes et l'état déshydraté à un échantillon stocké 24h sous vide primaire à 120°C. Les mesures ont été réalisées de 70 °C à 170°C avec une vitesse de montée en température de 7°C/min. Au préalable un champ de 300 kV/m avait été appliqué sur l'échantillon de lignine en poudre.

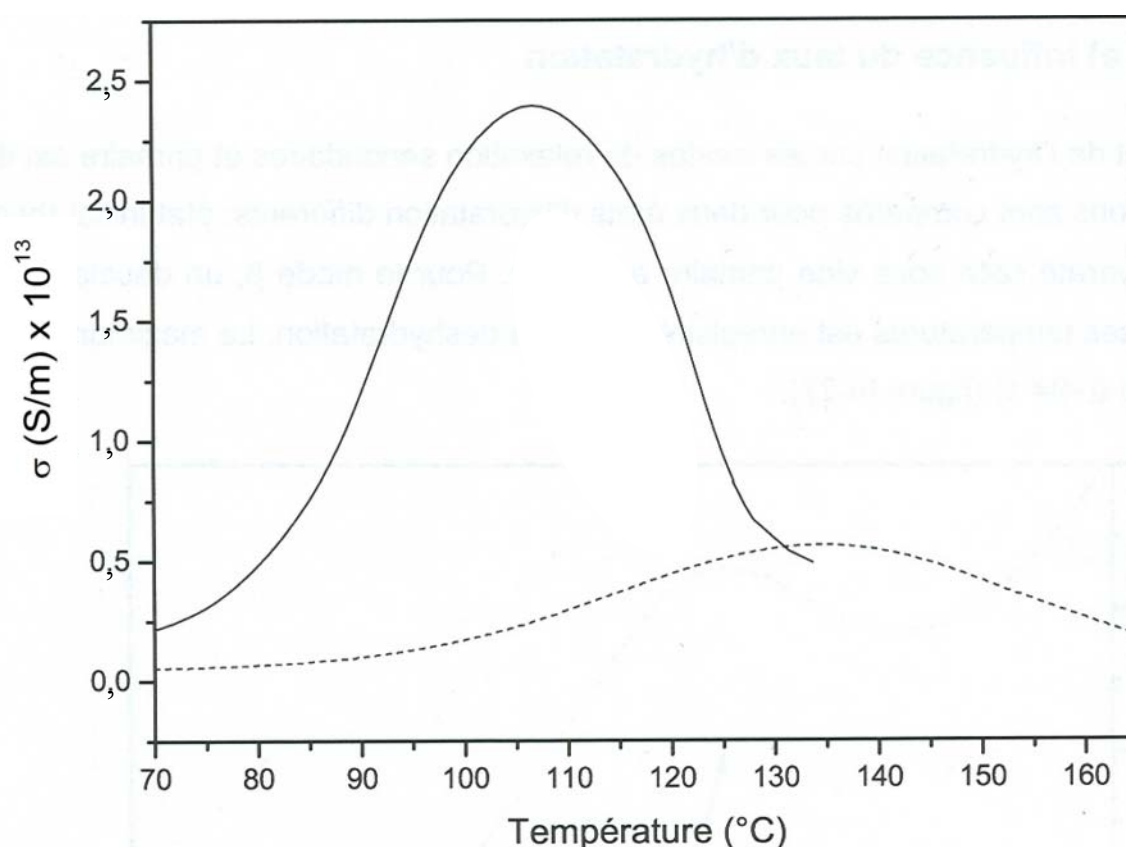


Figure IV-12 : Comparaison des thermogrammes CTS complexes de la lignine respectivement à l'état déshydraté [---] et l'état hydraté [—] [131]

Comme pour la cellulose, une diminution de la température maximale du pic, correspondant au mode de relaxation α , avec une augmentation de l'intensité est observée. La transition vitreuse de la lignine est aussi plastifiée par l'eau. Ce phénomène est caractéristique des polymères pariétaux mais plus généralement de

tous les polymères naturels. Une étude sur l'élastine de ligaments de nuque de bœuf confirme ce résultat [104].

III.2 Influence de l'hygrométrie sur la mobilité moléculaire localisée (β' , β et γ)

La permittivité diélectrique complexe du mode β' de la lignine a été étudiée par spectroscopie diélectrique dynamique de -60°C à 100°C pour différentes fréquences comprises entre $0,1\text{ Hz}$ et 10^6 Hz (Figure IV-13). L'échantillon de lignine en pastille contient initialement 5% d'eau. Le mode β' isotherme aux hautes fréquences se décale vers les basses températures et devient plus intense pour les fréquences de sollicitation les plus basses.

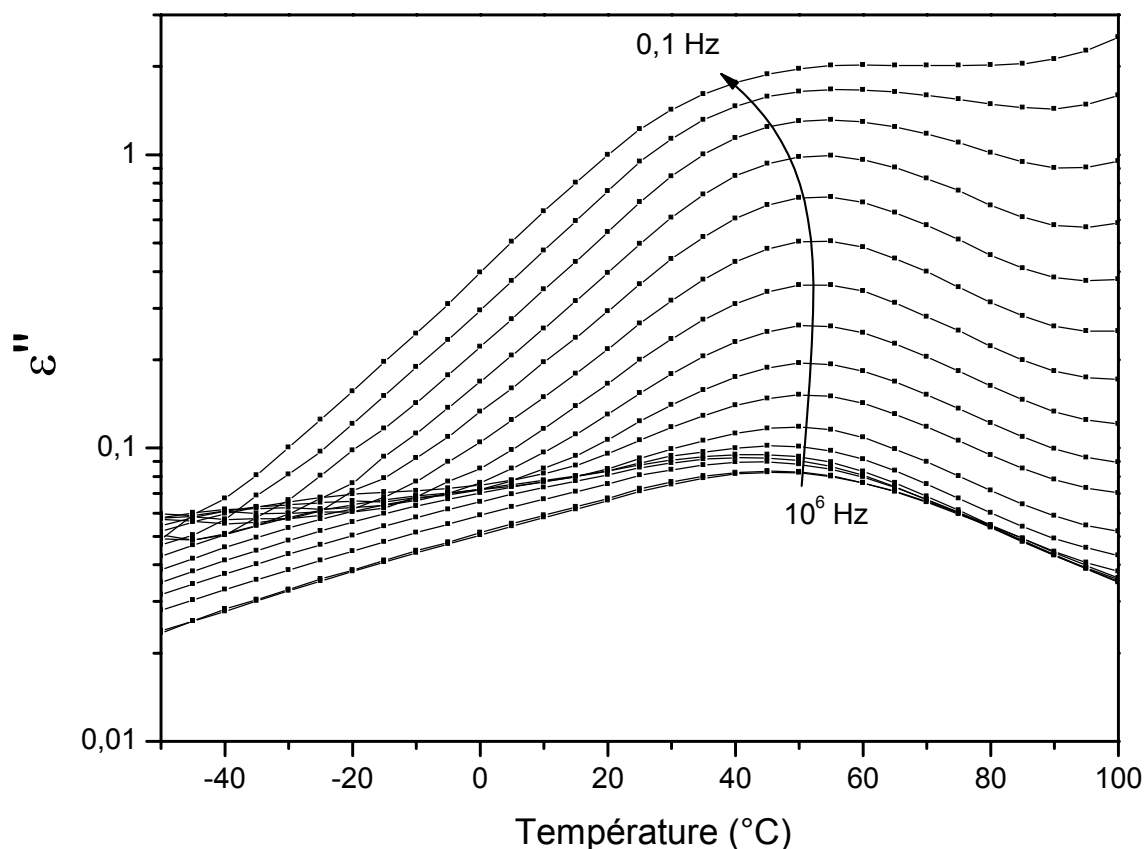


Figure IV-13 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité diélectrique ϵ'' du mode β' de la lignine en fonction de la température pour des fréquences comprises entre $0,1$ et 10^6 Hz

Ce mode β' est également observé sur la cellulose en pastille dans le même état d'hydratation (5%). La figure IV-14 présente la permittivité diélectrique complexe de la cellulose enregistrée par spectroscopie diélectrique dynamique dans la même gamme de température -60°C à 100°C pour des fréquences comprises entre $0,1\text{ Hz}$

et 10^6 Hz. Le mode β' possède le même comportement que pour la lignine. Cependant le décalage vers les basses températures pour des basses fréquences de sollicitation est plus marqué. L'intensité de ce mode est plus importante à basse fréquence. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que cette relaxation, commune aux deux polymères pariétaux, a une origine moléculaire similaire.

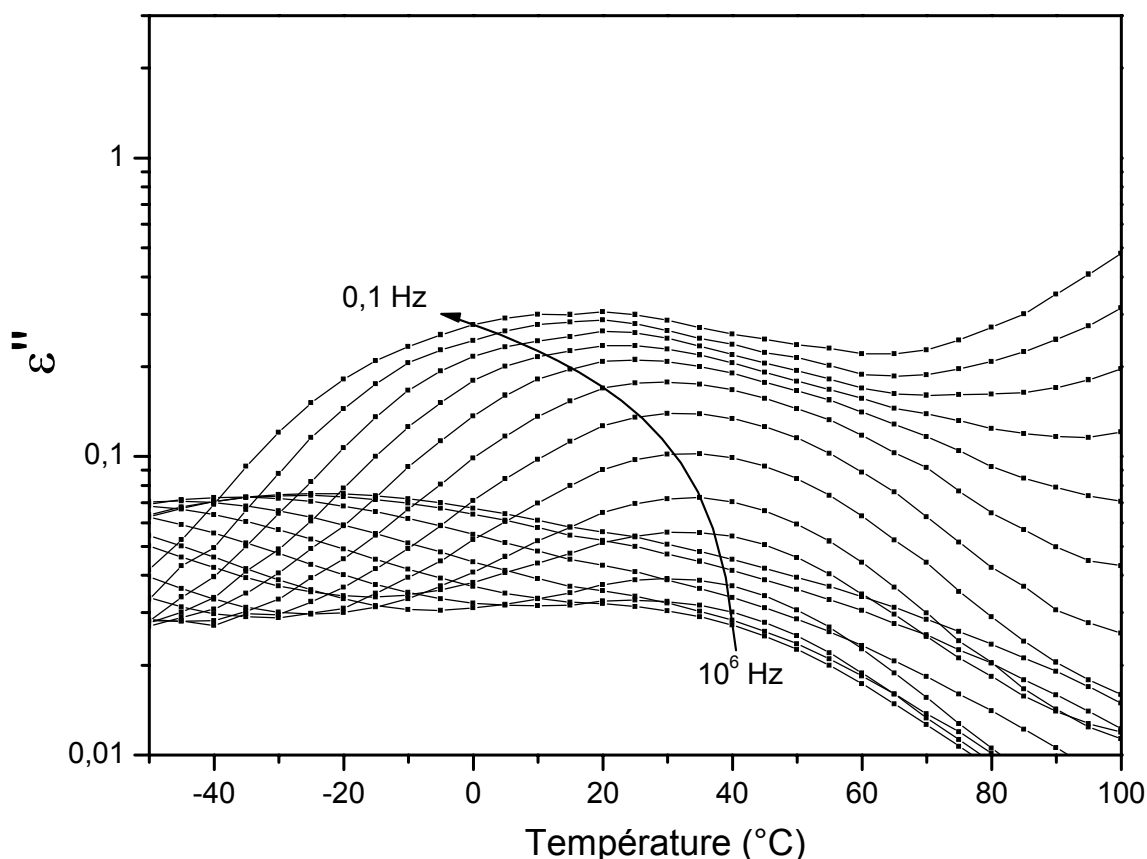


Figure IV-14 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité diélectrique ε'' du mode β' de la cellulose en fonction de la température pour des fréquences comprises entre 0,1 et 10^6 Hz

Nous avons vu précédemment que ce mode est intimement lié à l'eau puisqu'il n'est décelable qu'en présence de celle-ci (Figure IV-3). Ce mode nommé par certains auteurs β_{wet} est observé pour tous les polysaccharides [73-79]. Cette étude montre qu'il n'est pas intrinsèque aux polysaccharides puisque nous le retrouvons dans un autre type de polymère pariétal : la lignine. De plus ce mode de relaxation a aussi été observé dans d'autres types de matériaux à base de silice pure et d'aluminium [136]. Deux hypothèses peuvent décrire l'origine du mode β' : des mouvements d'orientation du complexe polymère-eau constituant un gel physique, des changements de conformation de l'eau confinée dans le matériau. Dans les deux cas cette relaxation est caractéristique d'un système polymère-eau.

Le mode β de la cellulose est un mode de relaxation spécifique au polymère qui subit les effets de l'hydratation. Par spectroscopie diélectrique dynamique il n'est détectable que pour deux teneurs en eau 3% et 7% (Figure IV-3 p.110). Dans la littérature Montès et al. ont constaté le même phénomène [137]. Ce mode de relaxation dépend de la teneur en eau de l'échantillon et n'est pas toujours repéré par SDD. Les courants thermostimulés nous apportent une meilleure résolution qui nous permet de suivre l'évolution de ce mode suivant différents taux hygrométriques (Figure IV-7 p.114). Le mode β se décale vers les basses températures quand la teneur en eau augmente (Figure IV-7 p.114). Tout comme le mode α , le mode β est plastifiée par l'eau. Ce résultat s'observe sur la cellulose aussi bien sur les analyses diélectriques que mécaniques (Figure IV-15). L'enthalpie d'activation de ce mode en fonction de l'hydratation est représentée sur la figure IV-15 à la fois pour les analyses diélectriques que mécaniques [138,139].

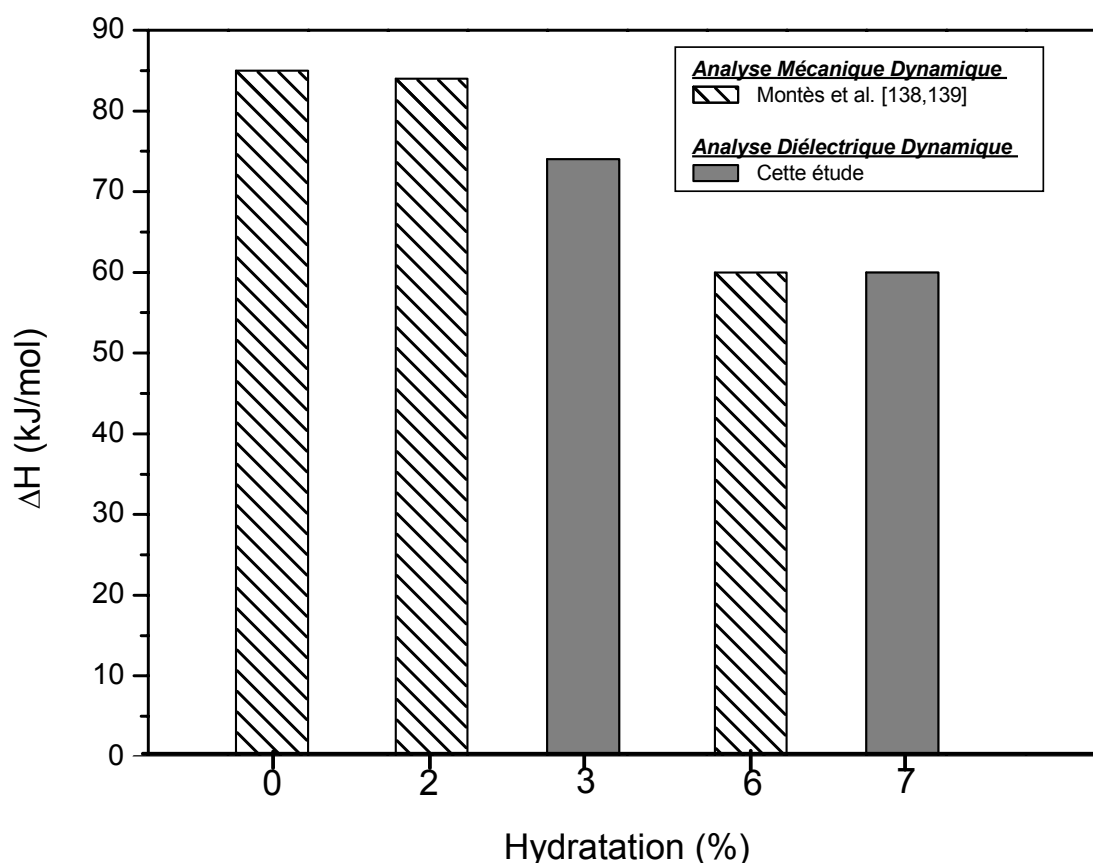


Figure IV-15 : Enthalpie d'activation du mode de relaxation mécanique et diélectrique $\beta_{\text{Cellulose}}$ pour différents taux hygrométriques

La diminution de l'enthalpie d'activation avec l'hydratation traduit un accroissement de la mobilité moléculaire caractéristique d'une plastification. Ce comportement du

mode β avec l'hydratation est souvent observé dans la littérature avec d'autres types de matériaux : Samouillan et al. sur l'élastine [140], Chevalier et al. pour des assemblages polyépoxy [132]. De plus parallèlement quand l'hydratation augmente, nous observons comme Montès et al. [138,139] une diminution de l'entropie d'activation. Les résultats sont reportés sur la figure IV-16.

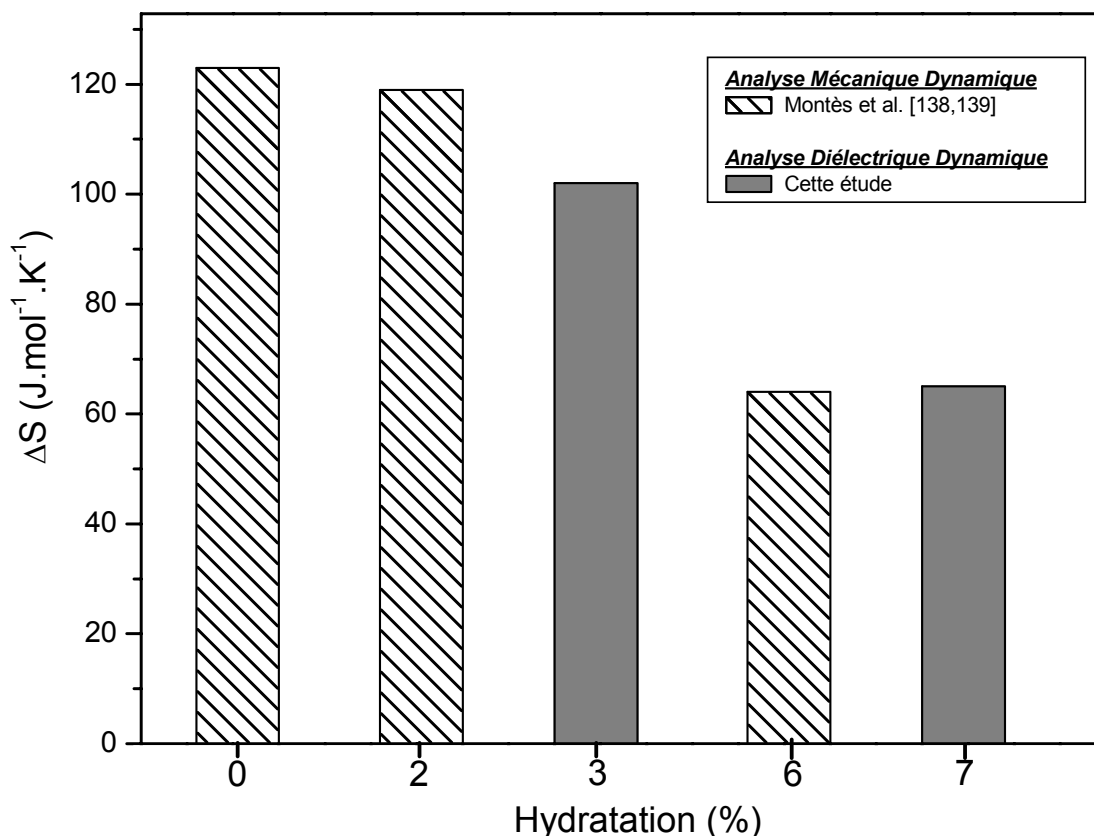


Figure IV-16 : Entropie d'activation des modes de relaxation mécanique et diélectrique $\beta_{\text{Cellulose}}$ pour différents taux hygrométriques

Le mode β de la cellulose présente des similitudes avec le mode α . D'après les analyses CTS dans le même état d'hydratation à 0%, ces deux modes de relaxation possèdent la même gamme d'enthalpie (cf. Chapitre 3 Figures III-7 p.79 et III-12 p.84). De plus le mode α est coopératif et le mode β possède un caractère coopératif naissant. Ces deux modes α et β sont tous les deux plastifiés par l'eau. L'origine du mode β est associée aux mouvements locaux des segments de chaînes via les liaisons glucosidiques alors que le mode α est la manifestation diélectrique de la transition vitreuse liée à la mobilité de la chaîne dans son ensemble. Le mode β peut être décrit comme un précurseur du mode α .

Le mode de relaxation à la plus basse température pour la cellulose est le mode γ . La littérature attribue ce mode à la mobilité moléculaire des groupements latéraux $-OH$ et $-CH_2OH$ [73-81, 137-139]. Ces groupements sont des sites hydrophiles qui sont susceptibles de former des liaisons hydrogène avec des groupements de même nature mais également avec des molécules d'eau. De part sa nature ce mode de relaxation ne peut pas être indifférent à l'influence de l'hydratation. Le comportement du mode γ avec l'eau est contraire à celui observé sur les modes α et β . La mise en évidence de l'anti-plastification du mode γ avec l'hydratation est originale. Ce résultat a été vérifié par les courants thermostimulés puisque sur la figure IV-7 (p.114), ce mode se décale vers les hautes températures quand la teneur en eau augmente. Il est également intéressant de noter que les valeurs d'enthalpie d'activation du mode γ (figure IV-17) sont voisines de 40 kJ/mol, valeur comparable à l'énergie d'une liaison hydrogène [66]. Dans la littérature, ce phénomène a déjà été observé en fluage thermostimulé par Lamure et al. sur le mode de relaxation principal associé à la transition vitreuse des protéoglycanes [141].

La figure IV-17 présente l'évolution de l'enthalpie d'activation de ce mode de relaxation avec l'hydratation. Une étude comparée avec d'autres types d'analyses est réalisée.

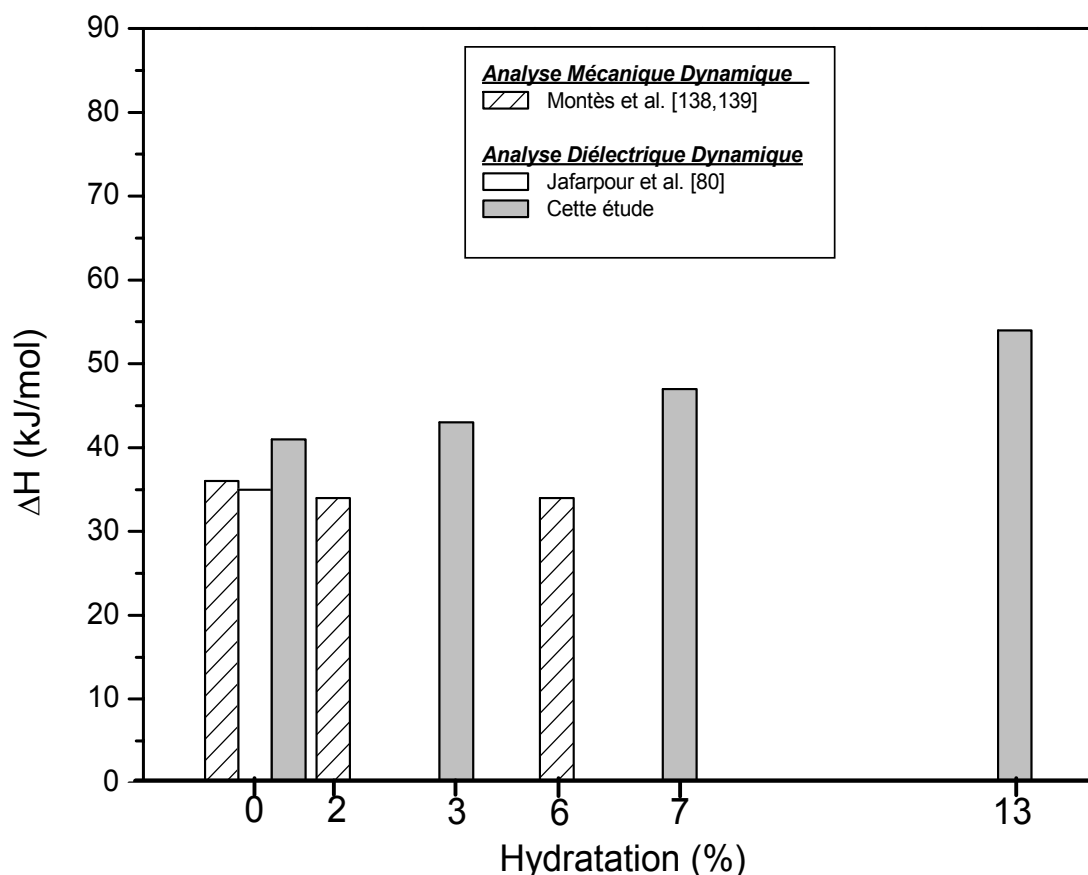


Figure IV-17 : Enthalpie d'activation du mode de relaxation mécanique et diélectrique $\gamma_{\text{Cellulose}}$ pour différents taux hygrométriques

Les résultats de SDD montrent que l'enthalpie d'activation du mode γ augmente avec le taux d'hydratation par contre ceux de l'analyse mécanique soulignent une stabilité de l'énergie d'activation. Cette différence de comportement est due essentiellement aux techniques utilisées. Le marqueur dipolaire de la spectroscopie diélectrique dynamique semble plus adapté à cette interaction locale.

L'étude comparée CTS - SDD a été réalisée pour des teneurs en eau respective de 3% et 7%. En effet, pour la cellulose dans deux états d'hydratation les modes de relaxation sont visibles par les deux techniques ; l'analyse des résultats est reportée dans le diagramme d'Arrhenius de la figure IV-18.

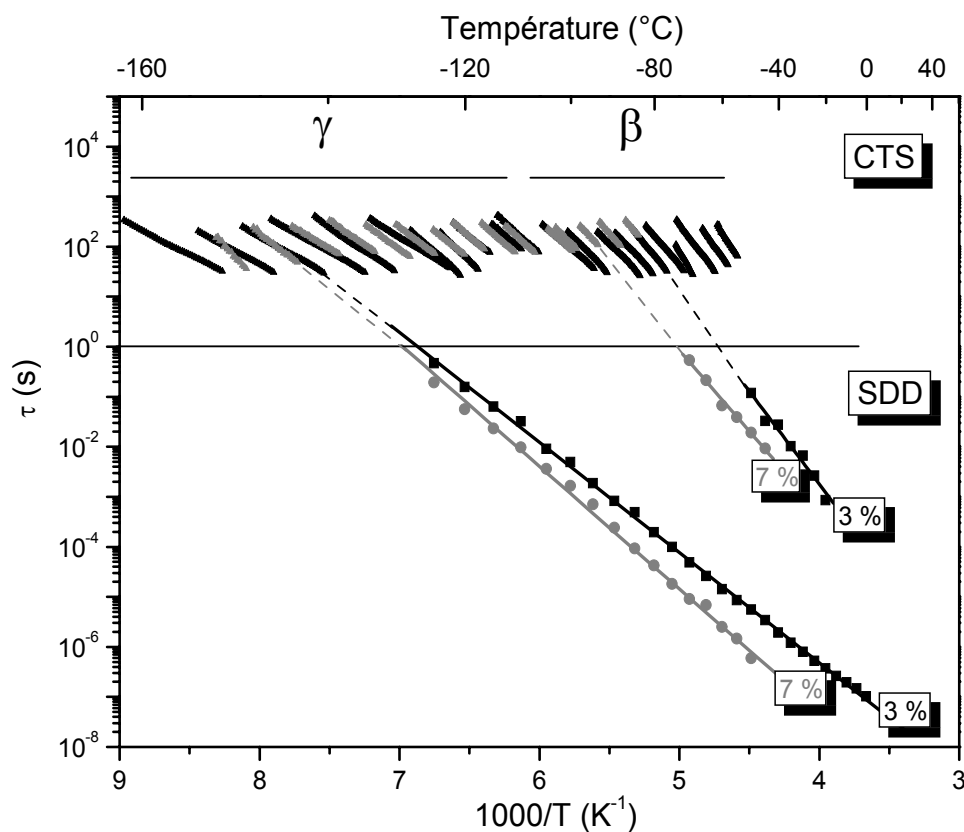


Figure IV-18 : Corrélation des résultats de SDD et CTS des modes de relaxation aux basses températures de la cellulose dans deux états d'hydratation

L'extrapolation basse fréquence des résultats SDD montre une bonne adéquation avec les données CTS pour ces deux états d'hydratation. La validité des résultats obtenus en CTS est donc confirmée. De plus que ce soit pour le mode α ou les modes γ et β , la CTS nous apporte une meilleure résolution des modes de relaxation et nous permet d'accéder à une plus large gamme d'hydratation.

Chapitre V

Influence des Modifications Génétiques

I. Arabidopsis Thaliana à l'état natif sauvage	130
I.1 Propriétés thermiques	130
I.1.1 Stabilité thermique	130
I.1.2 Transitions thermiques.....	132
I.2 Propriétés diélectriques.....	133
I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	133
I.2.2 Mobilité moléculaire localisée	138
II. Arabidopsis Thaliana mutantes	143
II.1 Propriétés thermiques	143
II.1.1 Stabilité thermique.....	143
II.1.2 Transitions thermiques.....	145
II.2 Propriétés diélectriques.....	147
II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	147
II.2.2 Mobilité moléculaire localisée	149
III. Discussion	157
III.1 Influence des modifications génétiques sur les structures chimique et physique	157
III.1.1 Structure chimique.....	157
III.1.2 Structure physique	158
III.2 Influence des modifications génétiques sur la mobilité moléculaire	159
III.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée	159
III.2.2 Mobilité moléculaire localisée	161

I. Arabidopsis Thaliana à l'état natif sauvage

I.1 Propriétés thermiques

I.1.1 Stabilité thermique

La stabilité thermique de la plante Arabidopsis Thaliana naturelle a été étudiée par l'analyse thermogravimétrique avec une rampe en température de 10°C/min. L'évolution du pourcentage de la masse de l'échantillon ainsi que sa dérivée par rapport à la température sont représentées en fonction de la température de 25°C jusqu'à 600°C (Figure V-1).

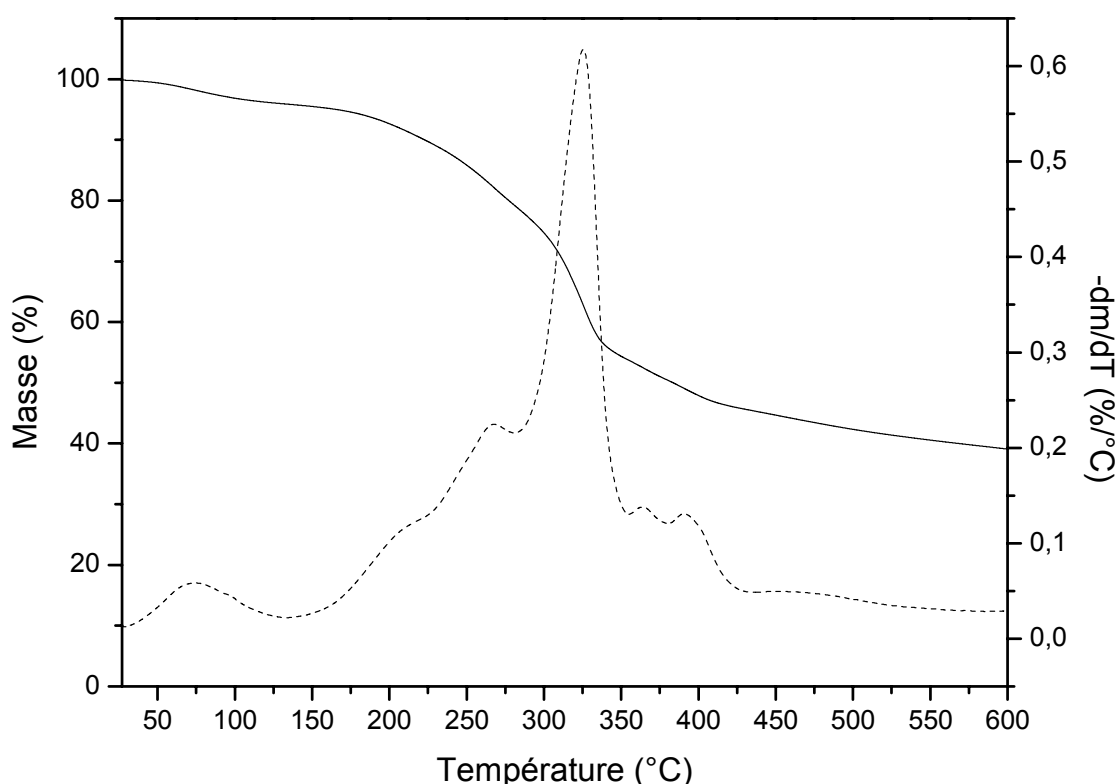


Figure V-1 : Thermogramme d'ATG de l'Arabidopsis Thaliana [—] et sa dérivée [- - -] de la température ambiante à 550°C avec un balayage à 10°C/min

Ce thermogramme met en évidence deux pertes de masse principales. La première de l'ordre de 4% débute à la température ambiante jusqu'à 130°C ; la seconde d'environ 60% de 150°C à 600°C. Cette dernière s'étend sur un large domaine et sa dérivée par rapport à la température montre qu'il s'agit d'un événement complexe en plusieurs étapes. Sur le signal dérivé nous observons plusieurs épaulements dont les maxima sont respectivement à 210°C, 267°C, 364°C et 392°C avec un pic principal à 325°C. La première perte de masse est un départ d'eau ; la seconde est caractéristique de la dégradation d'un matériau « composite » végétal. Au-delà de

500°C, les résidus représentent environ 40%. Le tableau V-1 présente l'analyse statistique des deux pertes de masses ainsi que les positions en température des deux principaux pics après plusieurs essais.

Perte d'eau		Dégradation	
Température (°C)	Perte de Masse (%)	Température (°C)	Perte de Masse (%)
73 ± 6 °C	$4,1 \pm 1,1$ %	325 ± 5 °C	$59,7 \pm 3,0$ %

Tableau V-1 : analyse statistique des données thermogravimétriques

La figure V-2 présente la comparaison entre les thermogrammes de la dérivée respectivement de l'*Arabidopsis Thaliana*, de la lignine et de la cellulose de 25°C à 550°C. Le thermogramme de la plante présente des similitudes avec celui de la lignine. Excepté le départ d'eau décalé vers les plus hautes températures pour la plante les événements thermiques à 210°C et 400°C correspondent à ceux de la lignine. Cependant le pic principal à 325°C est la réponse conjointe de la dégradation principale de la cellulose à 343°C et la lignine à 325°C.

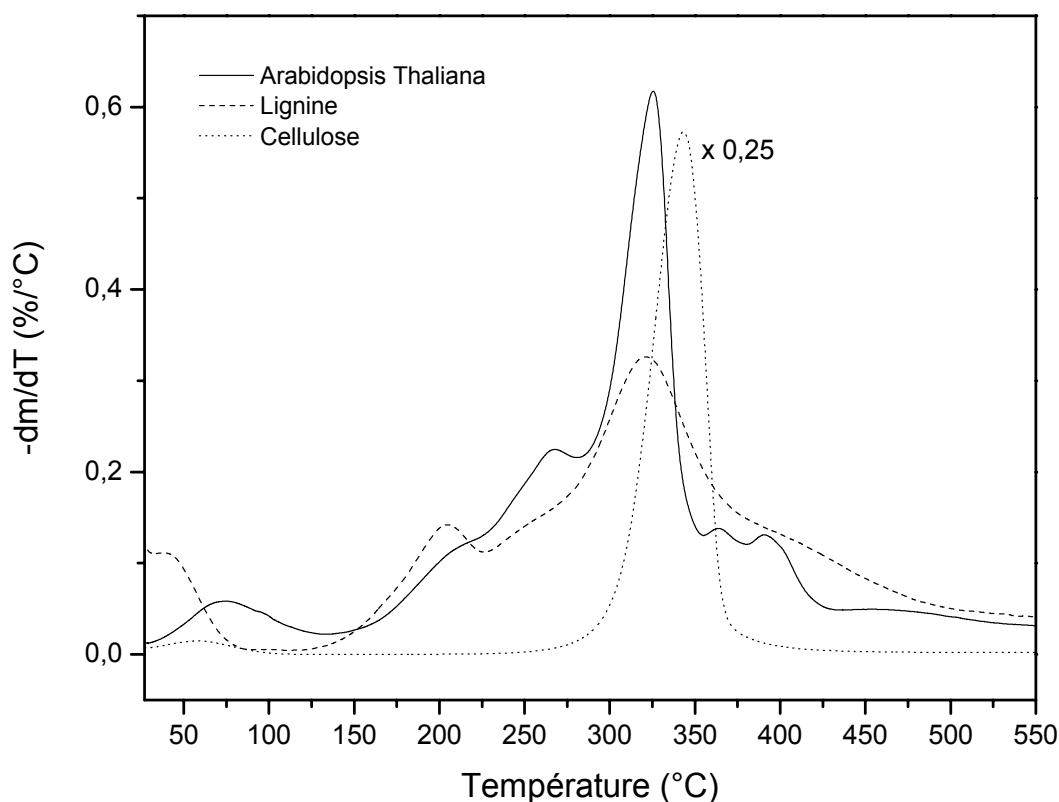


Figure V-2 : Comparaison des thermogrammes ATG de la dérivée de l'*Arabidopsis Thaliana* avec la lignine

Le décalage vers les températures croissantes du départ d'eau s'explique par l'architecture complexe de la plante et les interactions avec d'autres polymères hydrophiles comme la cellulose ou l'hémicellulose. En ce qui concerne la dégradation, les événements thermiques observés sur la lignine se retrouvent sur l'*Arabidopsis Thaliana*. La lignine qui confère la rigidité à la plante a une influence plus grande que les autres polymères pariétaux sur les propriétés thermiques.

I.1.2 Transitions thermiques

La plante *Arabidopsis Thaliana* a été étudiée en analyse calorimétrique diatherme avec une vitesse de montée en température de 20°C/min. L'évolution du flux de chaleur en fonction de la température est représentée sur la figure V-3 de 0°C à 180°C. Quatre balayages en température successifs, effectués sur un même échantillon sont représentés. Entre chaque essai, l'échantillon est refroidi à 20°C/min jusqu'à -20°C. Ce protocole permet de vérifier la reproductibilité ainsi que la réponse du matériau déshydraté.

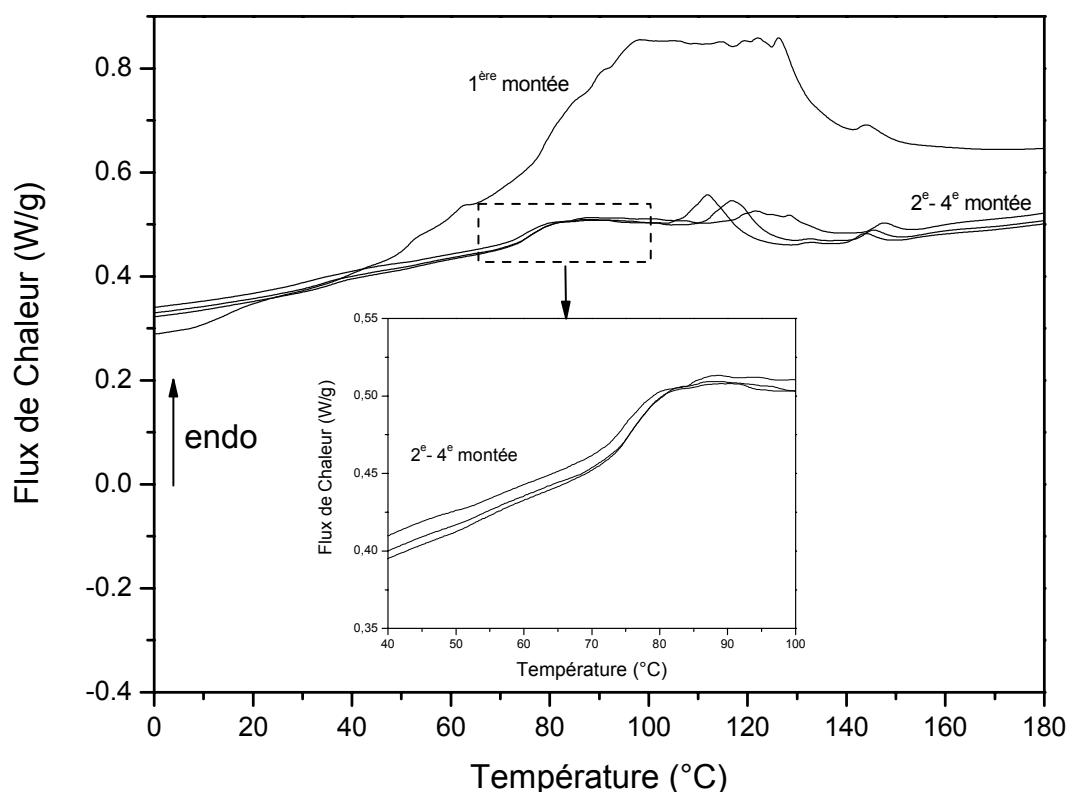


Figure V-3 : Thermogrammes ACD de l'*Arabidopsis Thaliana* pour quatre balayages successifs de 0°C à 180°C à 20°C/min

Sur le premier thermogramme, un large événement endothermique attribué au départ d'eau pendant le chauffage est observé. A partir du deuxième thermogramme, un saut de capacité calorifique caractéristique de la transition vitreuse est mis en évidence. La température de transition vitreuse de l'*Arabidopsis Thaliana* déshydratée est $76 \pm 1^\circ\text{C}$ avec $\Delta C_p = 0,17 \pm 0,01 \text{ J.g}^{-1}.\text{C}^{-1}$. Cette valeur est proche de celle de la lignine (72°C) mais également de celle de la cellulose (84°C). Nous reviendrons sur ce point lors de la discussion. Dans la zone 110°C à 140°C , nous observons un pic endothermique qui se décale vers les hautes températures à chaque nouveau cycle. Le maximum de ce pic est respectivement à 112°C pour le deuxième cycle, 117°C pour le troisième et enfin 121°C pour le dernier. L'intensité de ce pic diminue après chaque cycle. Ce phénomène endothermique, superposé à la transition vitreuse du composite naturel, est attribué au vieillissement physique du polymère. La présence du pic de vieillissement physique à chaque cycle traduit une cinétique de formation rapide des liaisons physiques dans la plante. A environ 145°C un autre phénomène endothermique de plus faible intensité est mis en évidence. Ce phénomène est caractéristique de la présence de lignine [131].

I.2 Propriétés diélectriques

I.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée

La mobilité moléculaire de l'*Arabidopsis Thaliana* a été étudiée à haute température par la technique des courants thermostimulés. La figure V-4 présente le thermogramme CTS complexe de la plante avec sa résolution expérimentale (thermogrammes élémentaires) de 0°C à 100°C à $7^\circ\text{C}/\text{min}$. Chaque thermogramme est obtenu après avoir appliqué un champ électrique de $E = 5,5 \text{ kV/m}$. Cette figure met en évidence un seul mode de relaxation à haute température avec un épaulement. Le maximum du mode de relaxation α est observé sur le thermogramme complexe à $T_\alpha = 64^\circ\text{C}$ et l'épaulement vers 28°C . L'analyse de ce mode par le critère de Starkweather souligne deux comportements distincts. L'évolution de l'enthalpie d'activation en fonction de la température ainsi que la droite de Starkweather sont représentées sur la figure V-5.

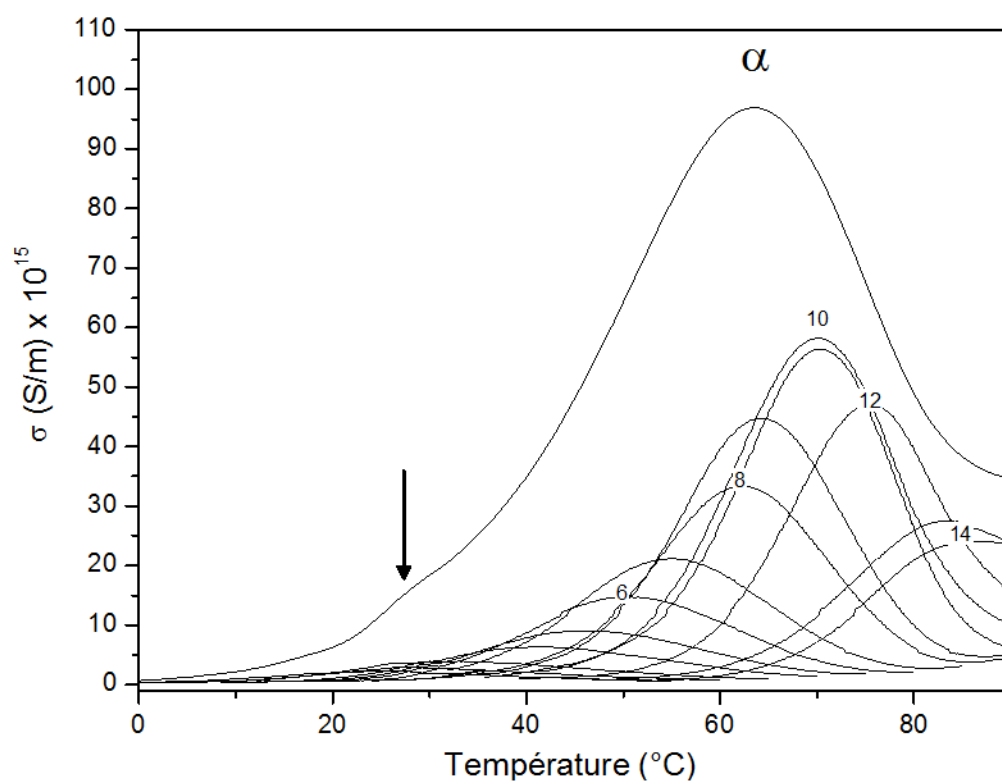


Figure V-4 : Résolution expérimentale du mode α de l'Arabidopsis Thaliana de 0°C à 90°C à 7°C/min

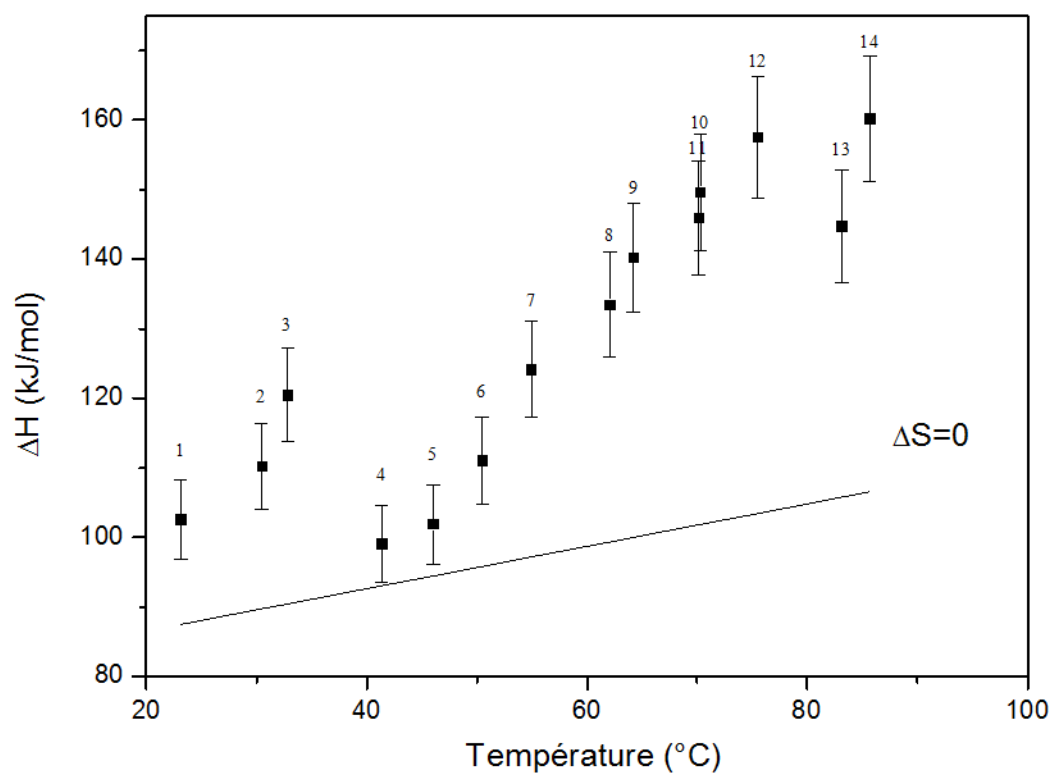


Figure V-5 : Représentation de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation α de la plante en fonction de la température. La droite correspond à la « droite de Starkweather ».

Les points expérimentaux (1-3) s'écartent de la droite de Starkweather pour atteindre la valeur de 121 kJ/mol. A environ 40°C, nous pouvons observer une brisure, le point 4 se situe à une enthalpie plus faible (100 kJ/mol) que le précédent. Au-delà de 40°C, les points s'éloignent de la droite de Starkweather jusqu'à atteindre la valeur de 160 kJ/mol. L'écart des valeurs de l'enthalpie d'activation par rapport à la droite de Starkweather traduit la coopérativité de cette relaxation. Ces deux relaxations coopératives sont donc associées à des relaxations primaires. Ces deux modes de relaxation α ont également été reportés sur un diagramme de compensation (Figure V-6 & Annexe V-1 p.195). Le phénomène de compensation se manifeste par une relation linéaire croissante entre l'entropie ΔS et l'enthalpie d'activation ΔH . Les deux comportements sont mis en évidence sur le diagramme de la figure V-6 qui confirme l'existence d'un double mode de relaxation primaire de la plante.

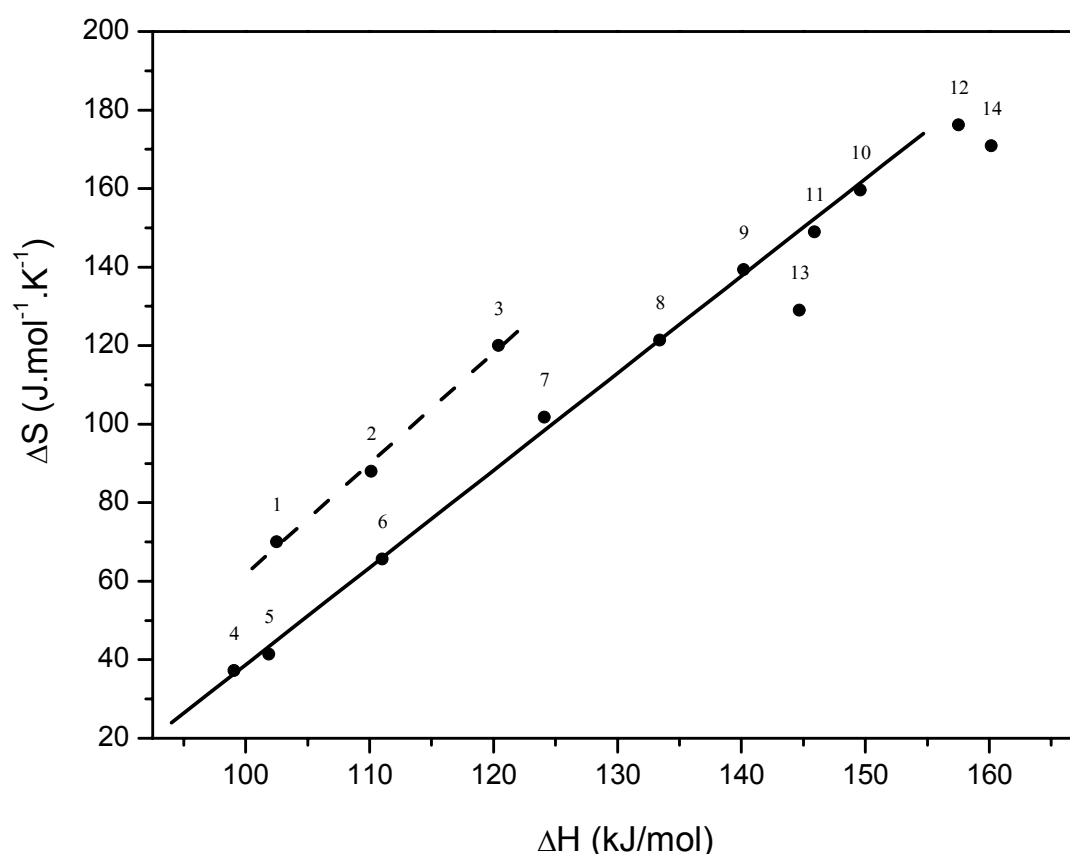


Figure V-6 : Diagramme de compensation du mode de relaxation α de l'Arabidopsis Thaliana

Ce phénomène a déjà été observé sur le bois de peuplier [131,142]. Jafarpour et al. ont déterminé, après compilation des analyses diélectriques deux modes α : i.e. α_1

correspondant à la réponse de la lignine dans le composite naturel et α_2 à celle de la cellulose. Un comportement similaire se retrouve dans l'*Arabidopsis Thaliana*. Toutefois, le premier phénomène de compensation n'est défini que sur trois points. L'analyse du mode de relaxation α en spectroscopie diélectrique dynamique, après le traitement analytique de Kramers-Kronig, ne révèle qu'un seul mode de relaxation à haute température (Figures V-7 et V-8) dont les temps de relaxation sont reportés sur la figure V-26. Les figures V-7 et V-8 montrent respectivement les résultats expérimentaux de SDD de la plante à l'état initial avant et après le traitement analytique par la méthode de Kramers-Kronig [101]. Les modes de relaxation α et γ se décalent vers les hautes températures quand la fréquence de sollicitation augmente alors que β' reste à la même température. Nous reviendrons dans la prochaine partie sur les relaxations plus localisées γ et β' . En ACD, les températures de transitions vitreuses des polymères pariétaux extraits sont voisines respectivement de 72°C pour la lignine et de 84°C pour la cellulose. La T_g de l'*Arabidopsis Thaliana* est quant à elle située à 76°C. Les interactions intermoléculaires entre polymères pariétaux expliquent la valeur de la T_g du composite végétal.

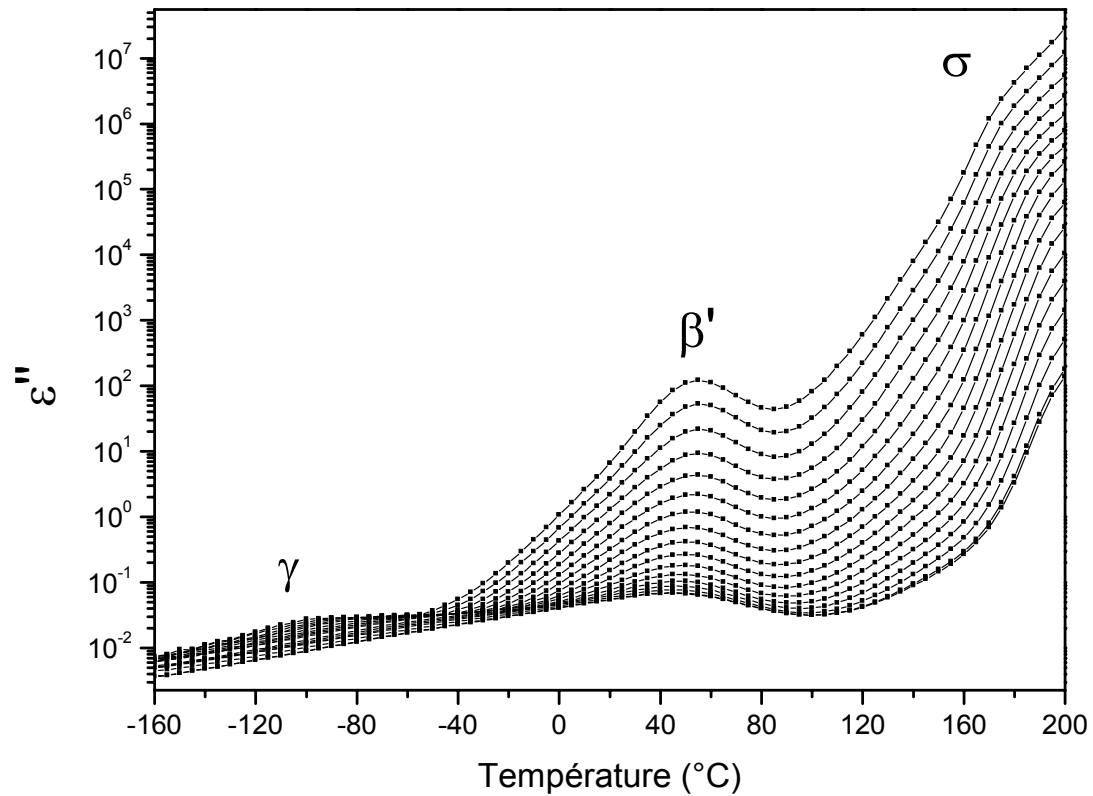


Figure V-7 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité en fonction de la température pour différentes fréquences comprises entre 0,1 et 10^6 Hz

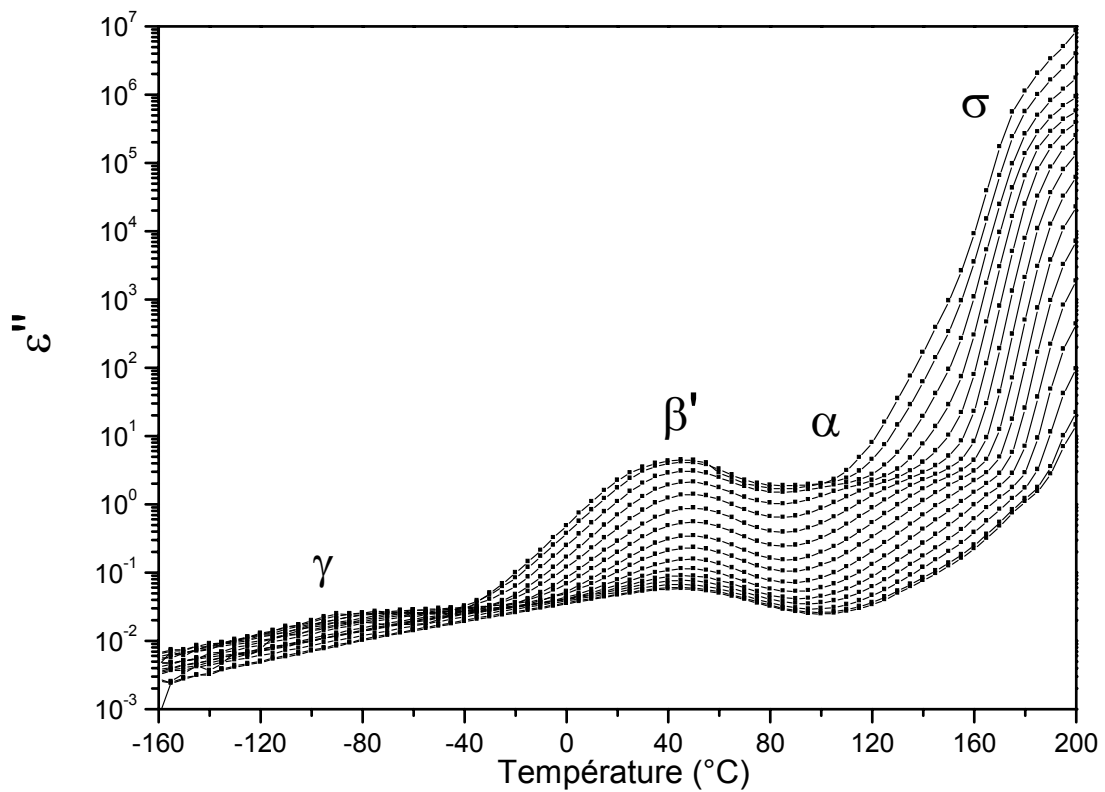


Figure V-8 : Résultats expérimentaux SDD de la figure V-7 traités par la méthode numérique de Kramers-Kronig

Les paramètres d'activation obtenus pour le mode α respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation sont $\Delta H = 100 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 42 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$. La combinaison des résultats SDD et CTS sera traitée lors de la discussion.

I.2.2 Mobilité moléculaire localisée

La mobilité moléculaire de la plante a été étudiée à basse température par la spectroscopie diélectrique dynamique et par la technique des courants thermostimulés. En spectroscopie diélectrique dynamique, la permittivité diélectrique complexe a été mesurée de manière isotherme pour des températures de -160 à 200°C par pas de 5°C , sur une gamme de fréquence de $[10^{-1}; 10^6] \text{ Hz}$. La figure V-9 met en évidence un mode de relaxation qui se décale suivant les températures croissantes quand la fréquence de sollicitation augmente.

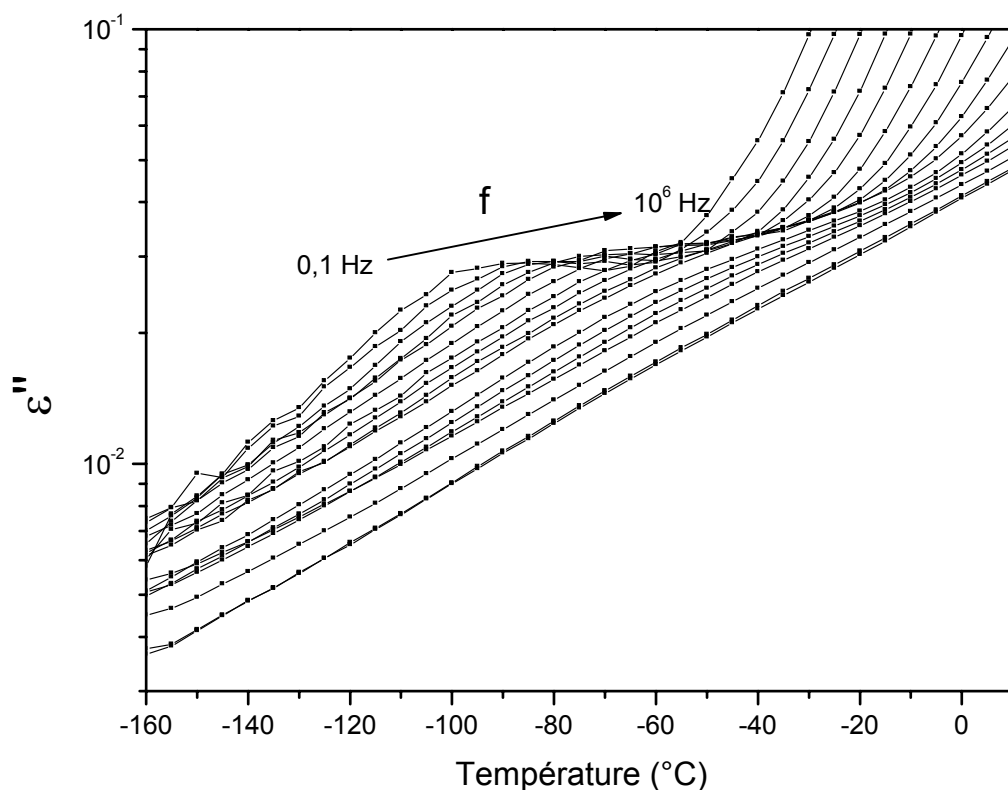


Figure V-9 : Evolution de la partie imaginaire de la permittivité en fonction de la température pour différentes fréquences comprises entre 10^{-1} et 10^6 Hz

Les temps de relaxation de ce mode sont présentés sur la figure V-10. Les données expérimentales suivent un comportement de type Arrhenius. Les paramètres obtenus

respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation sont $\Delta H = 59 \text{ kJ/mol}$ et $\Delta S = 83 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

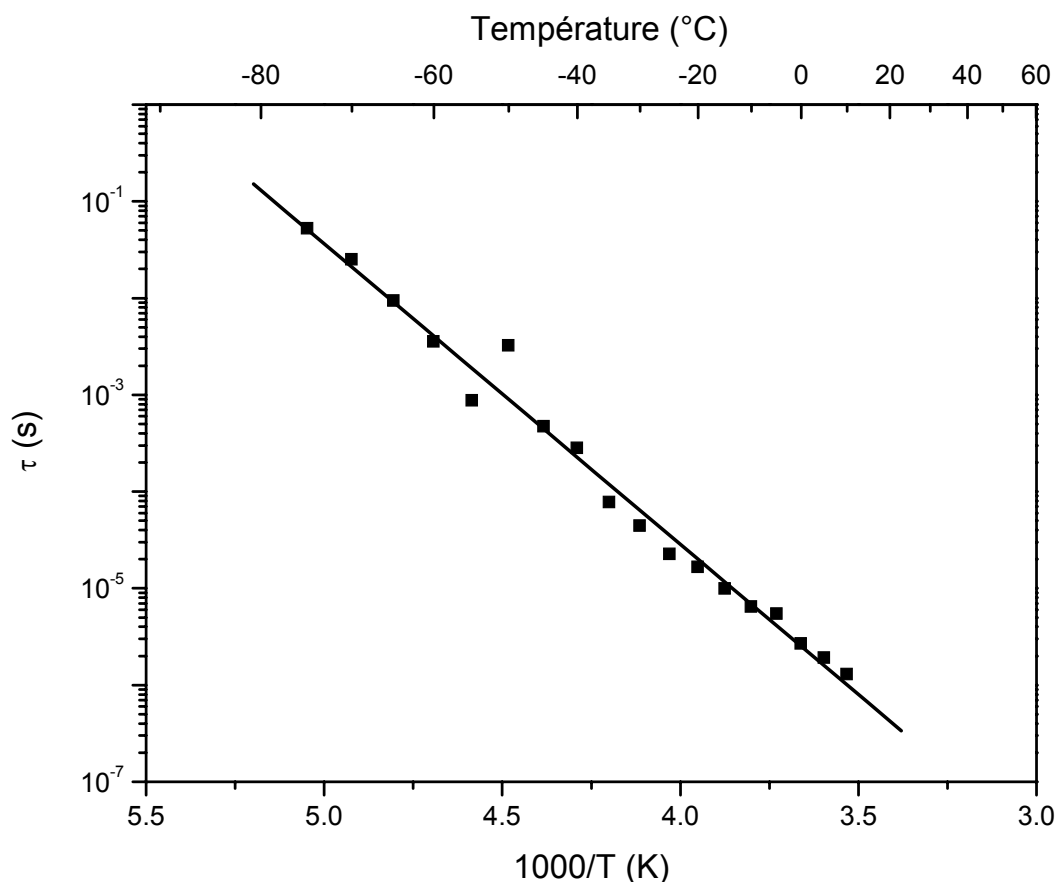


Figure V-10 : Diagramme d'Arrhenius du mode de relaxation à basse température de l'Arabidopsis Thaliana

L'étude de l'Arabidopsis Thaliana à basse température se poursuit avec la technique des courants thermostimulés. Comme nous l'avons vu précédemment cette technique apporte une meilleure résolution des modes de relaxation. Le thermogramme complexe de la figure V-11 présente l'évolution du courant de dépolarisation en fonction de la température de -150 à -40°C . Le champ électrique appliqué pour obtenir une bonne résolution des thermogrammes est de 780 kV/m . Contrairement aux résultats de spectroscopie diélectrique dynamique, un épaulement vers -120°C et un pic large dont le maximum se situe à -83°C sont mis en évidence. Ce thermogramme complexe a été déconvolué expérimentalement en thermogrammes élémentaires (Figure V-11).

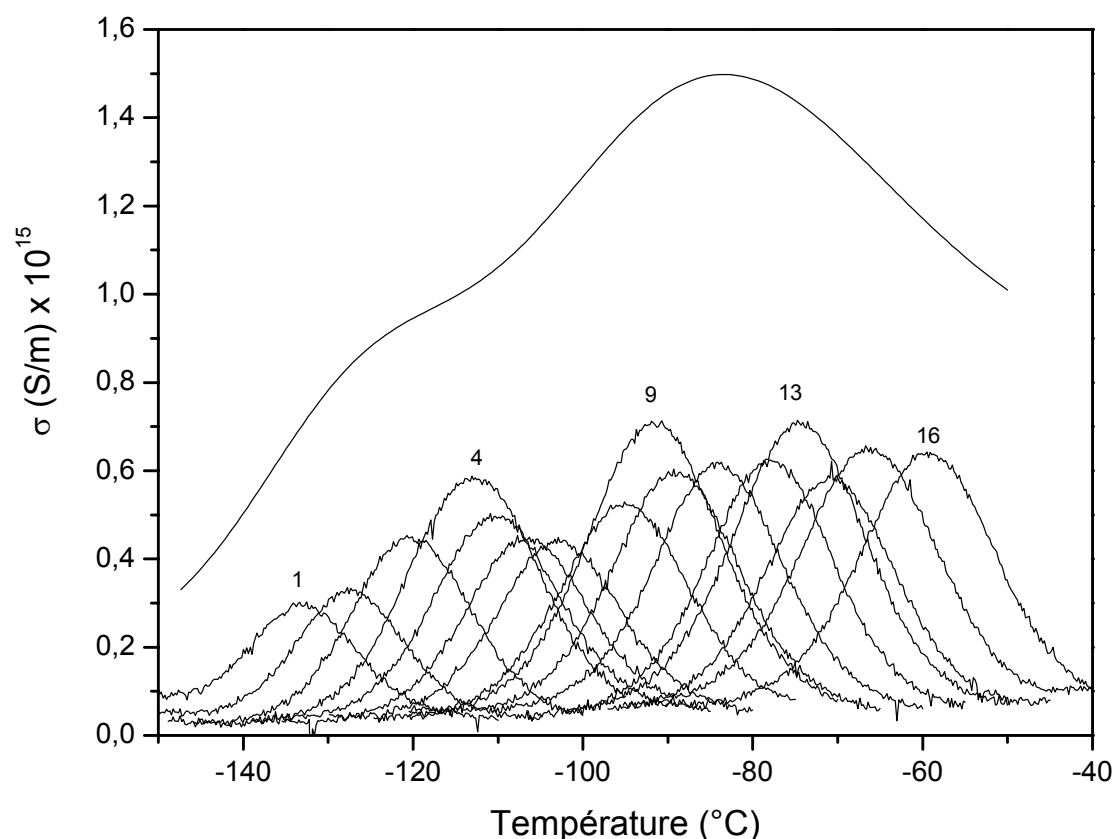


Figure V-11 : Thermogramme CTS complexe à basse température de l'Arabidopsis Thaliana et ses élémentaires associés de -150°C à -40°C à 7°C/min

Les thermogrammes élémentaires ayant une intensité maximale correspondent au maximum d'un phénomène de relaxation. Nous pouvons observer trois élémentaires avec une intensité supérieure aux autres, respectivement à -113°C, -91°C et -75°C, nous sommes donc en présence de trois modes de relaxation. L'analyse de la série de thermogrammes élémentaires nous permet d'extraire l'évolution de l'énergie d'activation en fonction de la température (Figure V-12). Trois séries de points espacées entre elles décrivent l'évolution en température de trois modes de relaxation. Ces trois modes de relaxation sont non coopératifs et leurs mobilités moléculaires associées, localisées.

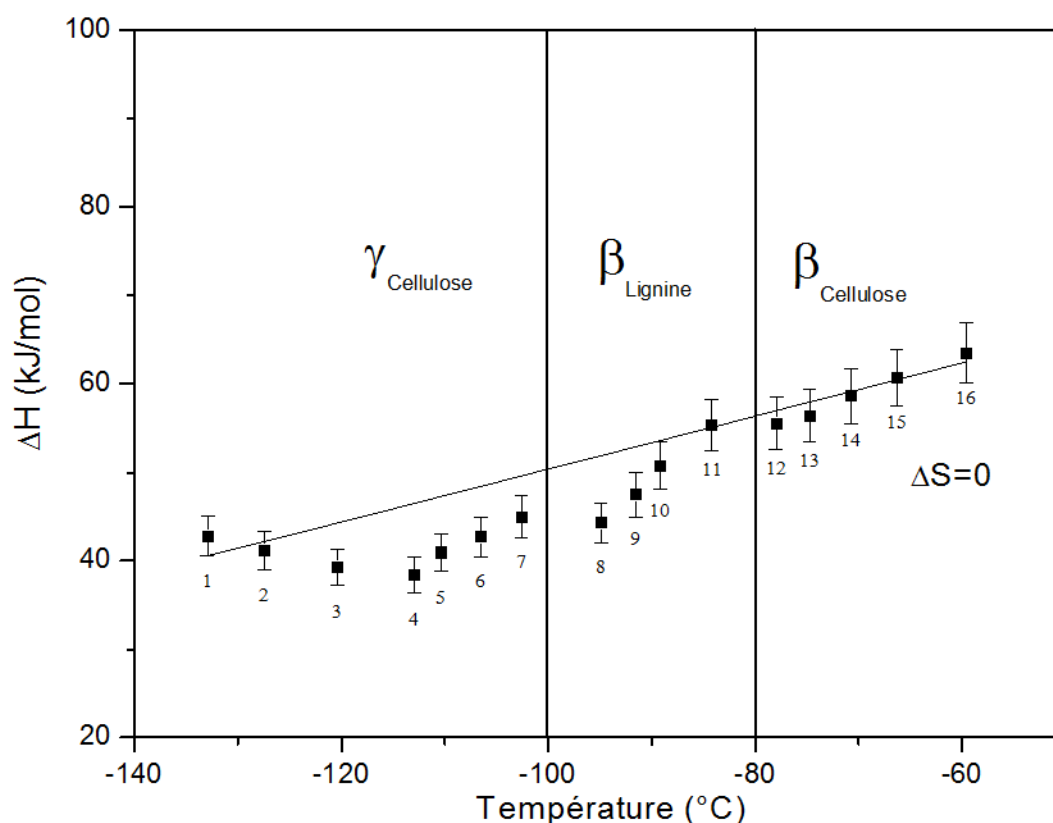


Figure V-12 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH des modes de relaxation aux basses températures de l'Arabidopsis Thaliana

L'origine moléculaire de ces trois modes de relaxation a été déterminée en fonction de leurs gammes d'enthalpie d'activation et leurs températures. Ainsi les points 4 à 7 sont attribués au mode γ de la cellulose, les points 8 à 11 au mode β de la lignine et les points 12 à 16 au mode β de la cellulose. Les mobilités moléculaires localisées de la cellulose et de la lignine se trouvent dans l'Arabidopsis Thaliana et sont des marqueurs spécifiques. Le diagramme de compensation de la figure V-13 (Annexe V-2 p.195) souligne quatre comportements distincts : un phénomène déjà observé sur la cellulose (points 1 à 4), suivi de trois phénomènes de compensation caractéristiques de trois modes de relaxation assignés aux modes de relaxation basses températures des polymères pariétaux. Les résultats de CTS à basse température de l'Arabidopsis Thaliana nous serviront de référence pour interpréter l'influence des différentes modifications génétiques.

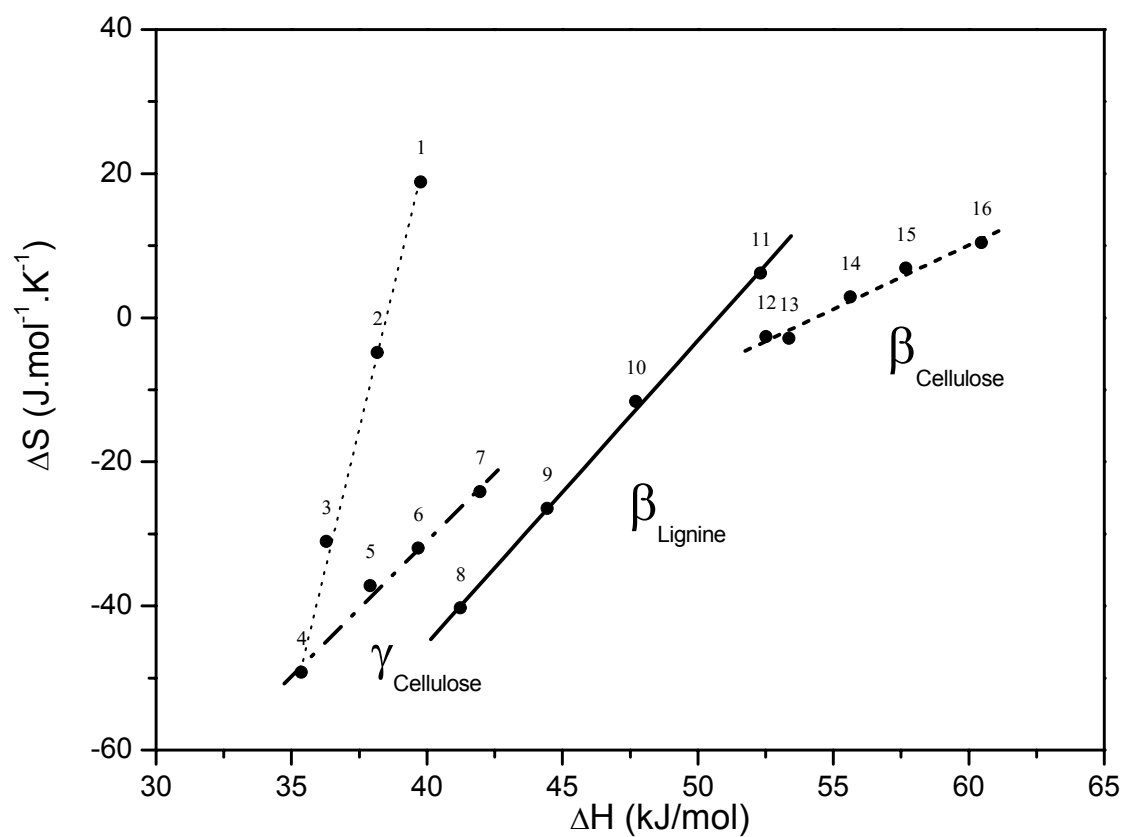


Figure V-13 : Diagramme de compensation des modes de relaxation secondaire de l'Arabidopsis Thaliana

II. Arabidopsis Thaliana mutantes

II.1 Propriétés thermiques

II.1.1 Stabilité thermique

La stabilité thermique des plantes mutantes a été étudiée par ATG à 10°C/min. L'évolution des dérivées du pourcentage de la masse des différents échantillons par rapport à la température est représentée en fonction de la température de 25°C jusqu'à 600°C (Figure V-14).

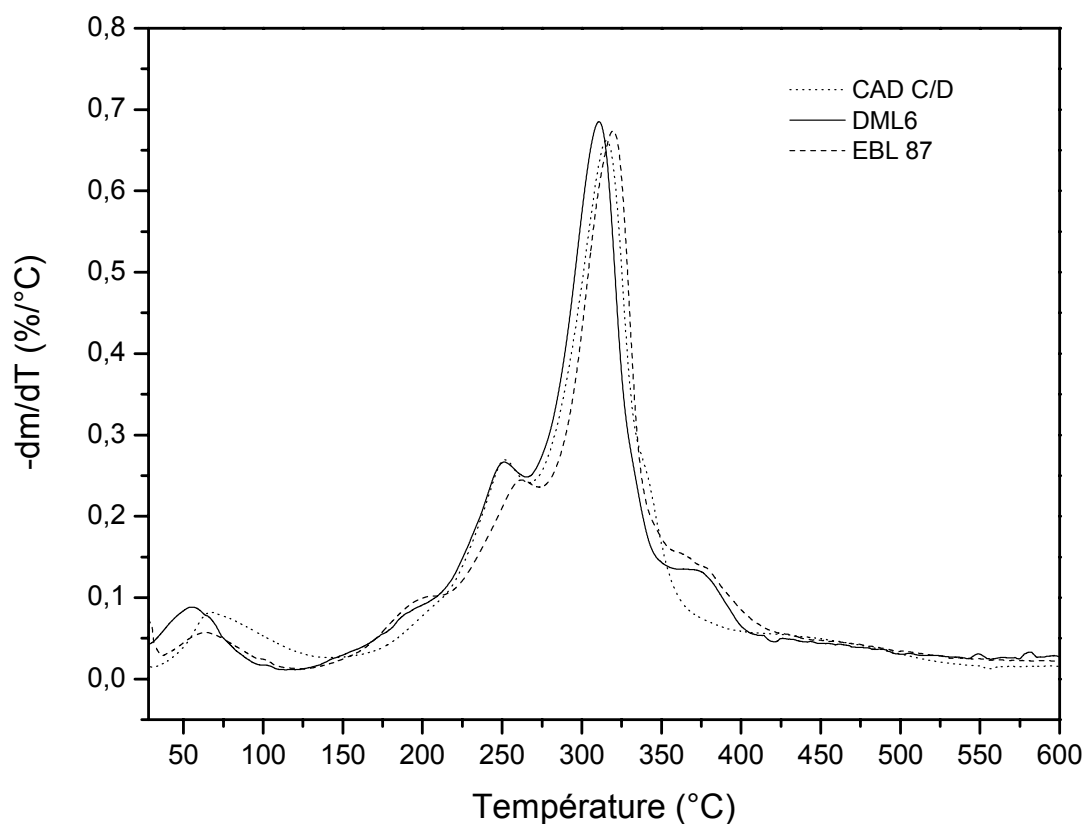


Figure V-14 : Comparaison des thermogrammes ATG de la dérivée des plantes mutantes

Les données d'analyse thermogravimétrique des différentes plantes mutantes sont regroupées dans le tableau V-2. Celui-ci précise la température des deux événements majeurs de chaque mutant ainsi que la perte de masse associée. Les événements majeurs sont la perte d'eau et la dégradation de la plante.

	Perte d'eau		Dégradation de la plante	
Plantes mutantes	Température (°C)	Perte de Masse (%)	Température (°C)	Perte de Masse (%)
CAD C/D	67 ± 3	5,4 ± 1,1	316 ± 10	59,7 ± 0,8
DML6	57 ± 7	5,2 ± 0,9	311 ± 5	63,6 ± 3,4
EBL 87	64 ± 2	3,9 ± 1,4	320 ± 3	62,1 ± 0,8

Tableau V-2 : Données d'analyse thermogravimétrique

La première perte de masse de l'ordre de 4 à 5% débute à la température ambiante jusqu'à 130°C, la seconde d'environ 60 à 70% s'étend de 150°C à 600°C. Cette dernière s'étend sur un large domaine et sur le thermogramme de la figure V-14, nous observons plusieurs épaulements montrant qu'il s'agit d'un événement en plusieurs étapes. Ces épaulements ne sont pas toujours décelables selon l'espèce mutante. Les épaulements situés entre 150°C et 225°C et ceux situés entre 350°C et 425°C ne sont détectés que pour les espèces EBL 87 et DML6. Par contre l'épaulement, dont le maximum se situe à environ 250°C, est présent sur tous les thermogrammes de chaque espèce d'*Arabidopsis* mutantes. Les différents échantillons sont stockés dans les mêmes conditions d'hygrométrie. Concernant la perte de masse à la dégradation l'espèce DML6 est celle qui se dégrade le plus avec les résidus organiques les moins importants. Même si nous pouvons observer la complexité des différents composites végétaux, cette technique ne nous permet pas de distinguer des différences majeures entre eux. Les résultats expérimentaux d'analyse thermogravimétrique permettent d'observer un comportement commun à la dégradation entre les espèces EBL 87 et DML6.

II.1.2 Transitions thermiques

Les plantes d'*Arabidopsis Thaliana* génétiquement modifiées ont été étudiées en analyse calorimétrique diatherme avec une vitesse de 20°C/min. L'évolution du flux de chaleur en fonction de la température est représentée sur la figure V-15 de 0°C à 180°C. Afin de s'affranchir de l'influence de la perte d'eau du matériau au cours de l'analyse, le protocole précédent est répété plusieurs fois. La figure V-15 présente les thermogrammes ACD des différents mutants au cours du quatrième balayage en température. Deux comportements sont mis en exergue. Le thermogramme de l'espèce DML6 présente trois événements thermiques alors que sur les thermogrammes des deux autres mutants CAD C/D et EBL 87, quatre phénomènes sont observables. Sur le thermogramme du mutant DML6 nous pouvons observer un pic endothermique intense (2) qui masque la transition vitreuse (1), dont le maximum se situe à $98 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une enthalpie de $6,6 \pm 0,6 \text{ J/g}$. Le deuxième pic endothermique (3) situé à environ 138°C est beaucoup plus faible.

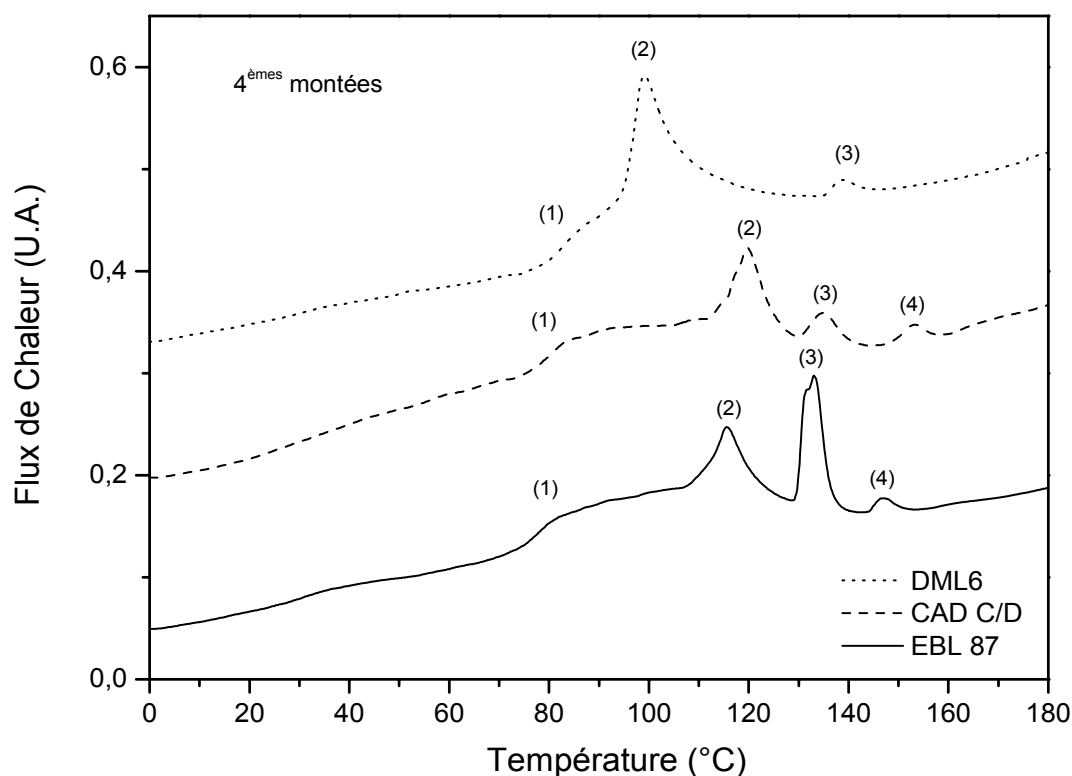


Figure V-15 : Thermogrammes ACD des plantes mutantes lors de la quatrième montée de 0°C à 180°C à 20°C/min

Les thermogrammes des mutants CAD C/D et EBL 87 présentent des similitudes. Quatre événements thermiques sont observables dans les deux cas, une transition vitreuse (1) avec un phénomène de vieillissement physique superposé (2) suivi de deux pics endothermiques (3) et (4). La température de transition vitreuse du mutant CAD C/D est de $79 \pm 3^\circ\text{C}$ avec un saut de capacité calorifique de $\Delta C_p = 0,13 \pm 0,02 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$. Celle du mutant EBL 87 est $79 \pm 2^\circ\text{C}$ avec un saut de capacité calorifique $\Delta C_p = 0,12 \pm 0,03 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$. Le pic endothermique (3), situé à $135 \pm 1^\circ\text{C}$ pour l'espèce CAD C/D et à $133 \pm 1^\circ\text{C}$ pour EBL 87, est une fusion liée aux modifications génétiques sur la plante puisqu'elle n'est observable que sur deux mutants spécifiquement. De plus, l'enthalpie de fusion de ce pic est beaucoup plus importante pour le mutant EBL 87 ($\Delta H = 1,76 \pm 0,06 \text{ J/g}$) que pour CAD C/D ($\Delta H = 0,28 \pm 0,36 \text{ J/g}$). Enfin, le dernier événement thermique à la plus haute température se retrouve sur tous les thermogrammes des mutants ((3) pour DML6, (4) pour CAD C/D et EBL 87) avec une température maximale du pic qui varie selon l'espèce végétale. Les données d'analyse calorimétrique sont reportées sur le tableau V-3.

Plantes mutantes	Événement Thermique (1)		Événement Thermique (2)		Événement Thermique (3)		Événement Thermique (4)	
	T (°C)	ΔC_p (J/[g.°C])	T (°C)	ΔH (J/g)	T (°C)	ΔH (J/g)	T (°C)	ΔH (J/g)
CAD C/D	79 ± 3	$0,13 \pm 0,02$	120 ± 8	$2,2 \pm 1,2$	135 ± 1	$0,28 \pm 0,36$	153 ± 3	$0,15 \pm 0,03$
DML6	97 ± 2	$0,21 \pm 0,01$	98 ± 2	$6,6 \pm 0,6$	138 ± 2	$0,18 \pm 0,03$		
EBL 87	79 ± 2	$0,12 \pm 0,03$	116 ± 11	$2,5 \pm 0,9$	133 ± 1	$1,76 \pm 0,06$	145 ± 1	$0,12 \pm 0,01$

Tableau V-3 : Données d'analyse calorimétrique des différents événements thermiques des plantes mutantes

Les valeurs d'enthalpie de fusion de ce pic sont sensiblement les mêmes sur l'ensemble des échantillons. Cette fusion observée est donc un phénomène endothermique spécifique à la plante.

II.2 Propriétés diélectriques

II.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée

La figure V-16 présente l'analyse du mode de relaxation α des trois mutants de l'*Arabidopsis Thaliana* par le critère de Starkweather. Les points expérimentaux s'écartent tous de la droite d'entropie nulle. Ce comportement est associé à la coopérativité de ce mode de relaxation. Cependant les valeurs d'enthalpie maximale diffèrent d'une espèce à l'autre et ne se produisent pas à la même température. Pour chaque échantillon les valeurs d'enthalpie maximale sont reportées dans le tableau V-4 avec leurs températures associées.

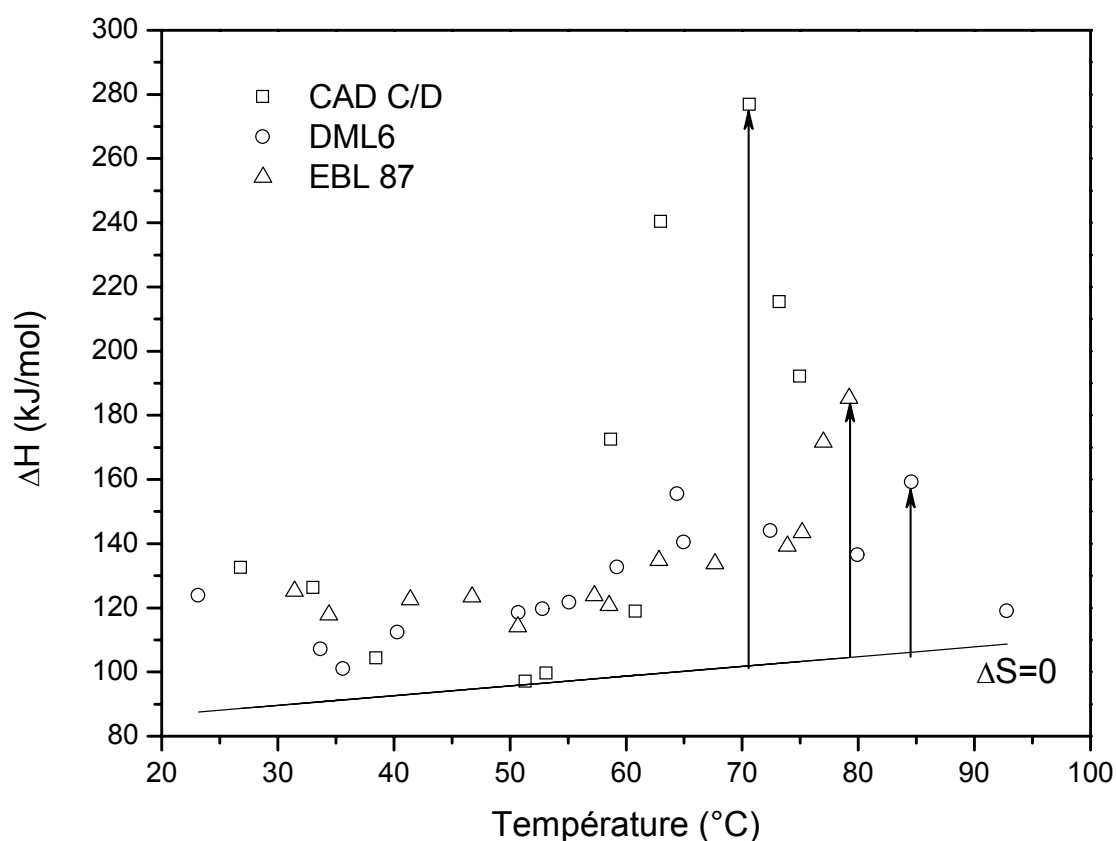


Figure V-16 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation principal α des mutants de l'*Arabidopsis Thaliana*

Plantes mutantes	Température (°C)	Enthalpie maximale (kJ/mol)
CAD C/D	71 ± 2	277 ± 15
DML6	85 ± 2	160 ± 9
EBL 87	79 ± 2	185 ± 11

Tableau V-4 : Données d'analyse diélectrique sur les enthalpies d'activation maximales du mode α des mutants

Nous pouvons observer que le mutant CAD C/D a la valeur d'enthalpie la plus élevée 277 kJ/mol et le mode de relaxation principal du mutant DML6 a une enthalpie maximale à plus haute température comparable à celle de la plante non modifiée (Figure V-5 p.134). La gamme d'enthalpie d'activation dépend de la modification génétique. La modification génétique qui influence les monomères de la lignine (CAD C/D) [83, 84, 88, 89] ou encore la synthèse d'unités S constitutives de la lignine (EBL 87) [83, 86, 87] rend les chaînes macromoléculaires des mutants de plus en plus coopératives.

La figure V-17 est le diagramme de compensation du mode de relaxation α des mutants (Annexes V-3 & V-4 p.196, V-7 & V-8 p.198, V-11 & V-12 p.200). Pour chaque espèce une relation linéaire entre l'entropie et l'enthalpie est mise en évidence. Lorsque les valeurs d'enthalpie d'activation augmentent l'entropie augmente également, i.e. la taille des entités mobiles sollicitées est de plus en plus grande.

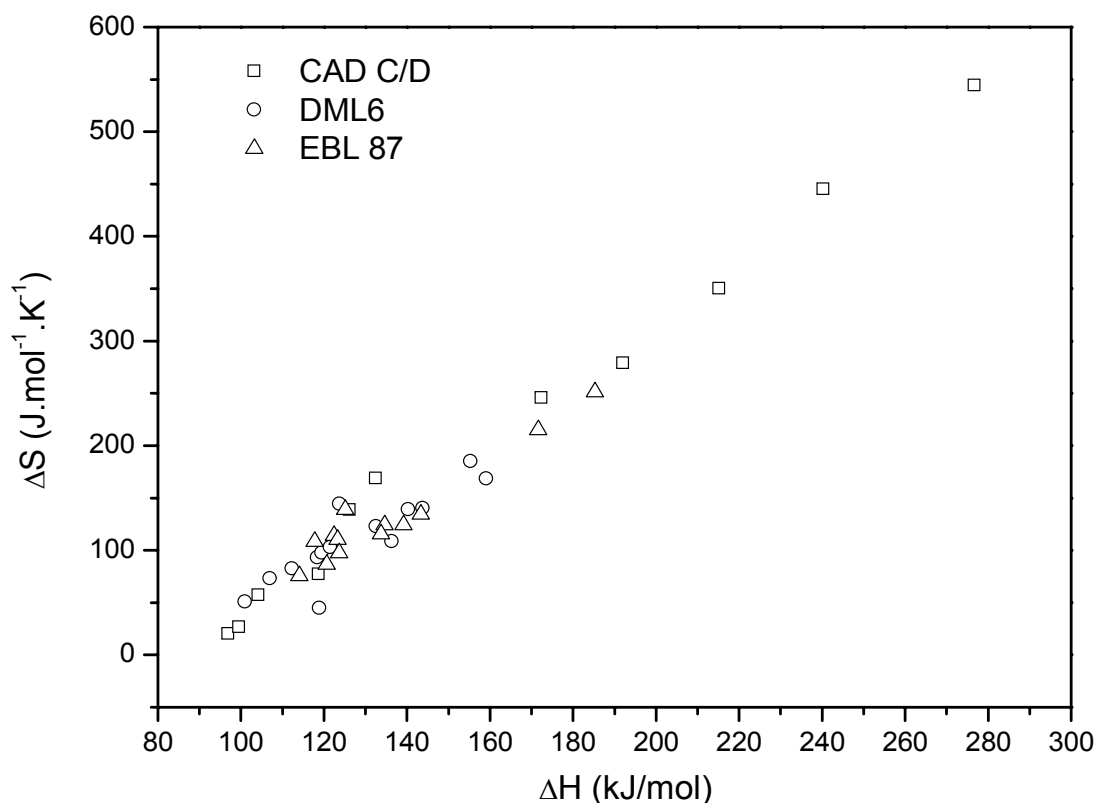


Figure V-17 : Diagramme de compensation du mode de relaxation principal α des mutants de l'Arabidopsis Thaliana

Ce diagramme de compensation confirme les résultats précédents et montre que les mutants CAD C/D et EBL 87 possèdent les plus grandes gammes enthalpiques et entropiques. Le classement des mutants par ordre de gammes enthalpiques et entropiques croissantes est le suivant : DML6 < EBL 87 < CAD C/D. Les modifications génétiques influencent donc la longueur des séquences de chaînes mobiles.

II.2.2 Mobilité moléculaire localisée

La mobilité moléculaire des mutants a été étudiée à basse température par la spectroscopie diélectrique dynamique et par la technique des courants thermostimulés. En spectroscopie diélectrique dynamique, la permittivité diélectrique complexe a été mesurée de manière isotherme pour des températures de -160°C à 200°C . La figure V-18 présente le facteur de pertes diélectriques en fonction de la température à 1 Hz pour les mutants de l'Arabidopsis Thaliana. A basse température, les différentes espèces possèdent toutes un mode de relaxation identique.

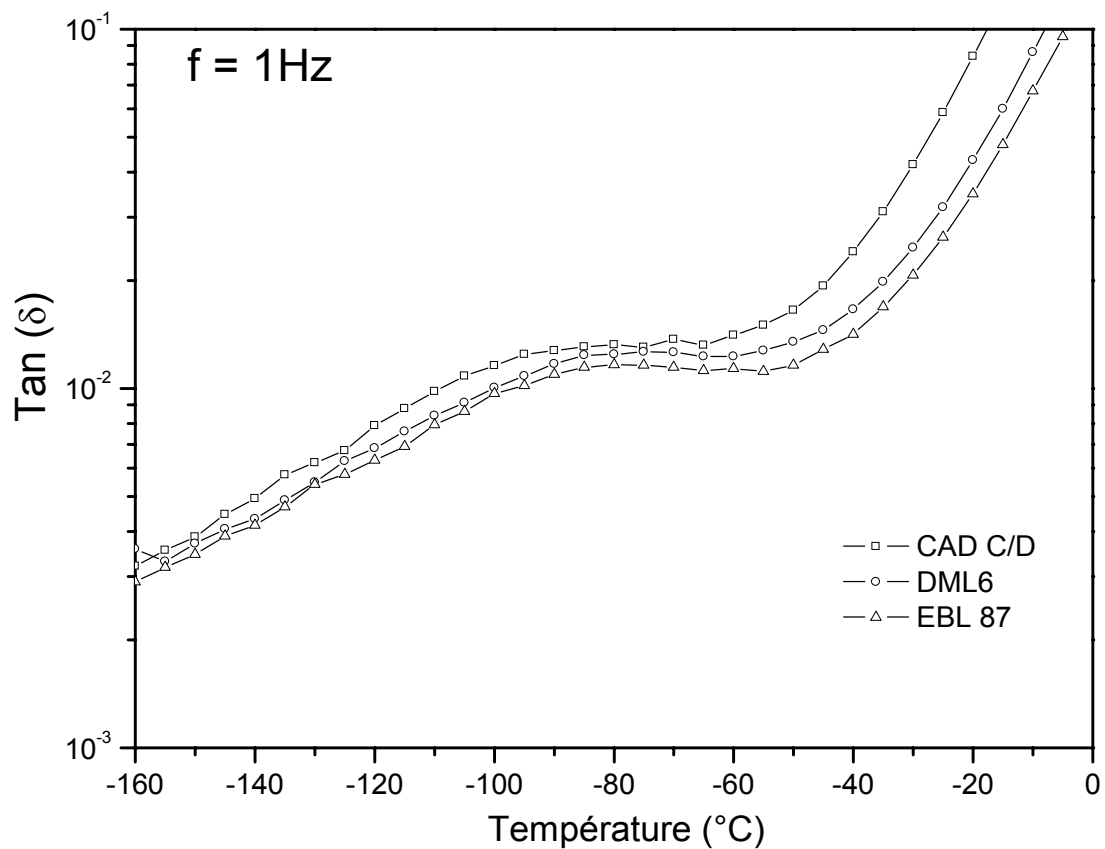


Figure V-18 : Facteur de pertes diélectriques en fonction de la température (-160°C à 0°C) à 1 Hz pour les mutants de l'Arabidopsis Thaliana

Les temps de relaxation de ce mode sont présentés sur la figure V-19 pour chacun des mutants. Les données expérimentales sont correctement ajustées par une droite traduisant un comportement de type Arrhenius pour ce mode.

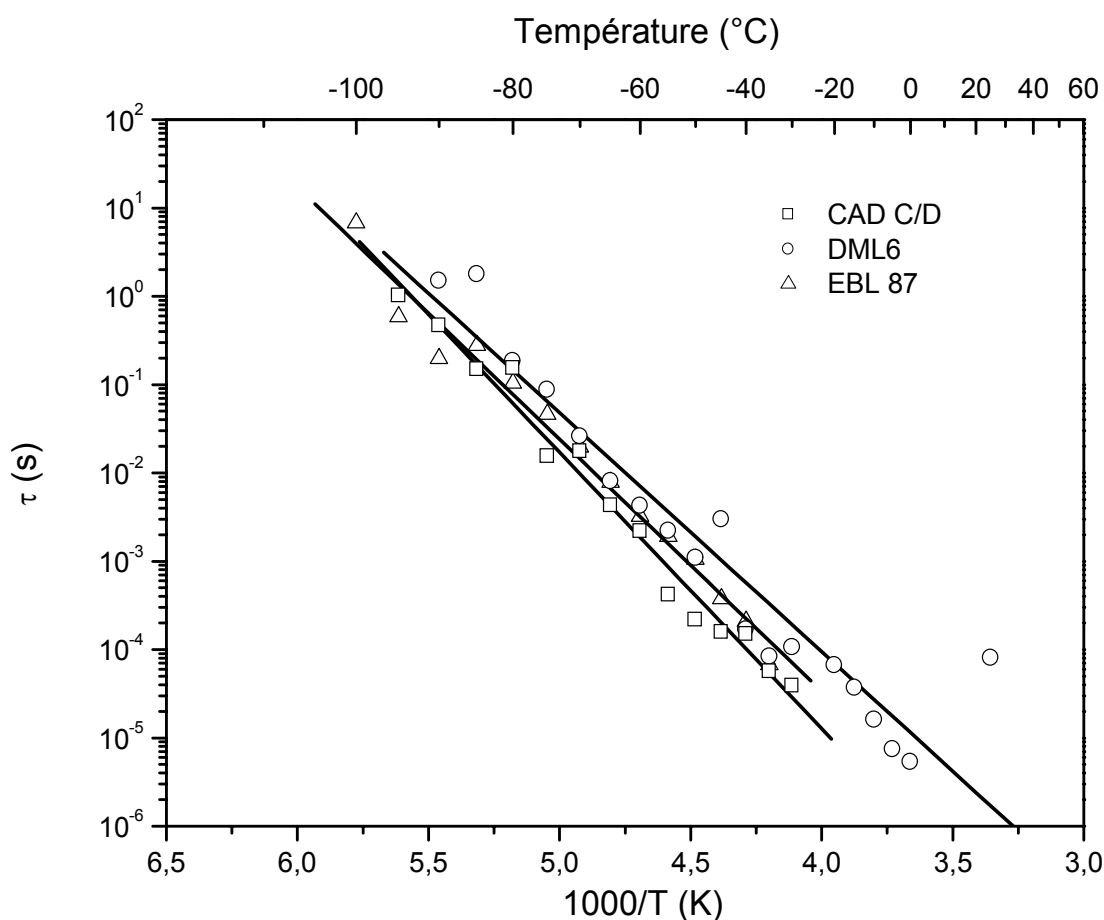


Figure V-19 : Diagramme d'Arrhenius du mode de relaxation à basse température des mutants de l'Arabidopsis Thaliana

Les paramètres obtenus respectivement l'enthalpie et l'entropie d'activation sont reportés dans le tableau V-5. Ces résultats mettent en évidence des paramètres d'activation avec des valeurs croissantes du mutant DML6, EBL 87 au mutant CAD C/D. Ce dernier a une entropie et une enthalpie d'activation plus grande que les autres. L'entropie est associée au « désordre » et l'enthalpie à la mobilité moléculaire. L'environnement de l'entité relaxante du mutant CAD C/D est le plus désordonné avec une mobilité moléculaire à basse température la plus faible ; à contrario du mutant DML6. La mobilité moléculaire localisée est influencée par la modification génétique.

Plantes mutantes	Entropie d'activation ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	Enthalpie d'activation ΔH (kJ/mol)
CAD C/D	91	60
DML6	42	52
EBL 87	62	55

Tableau V-5 : Données d'analyse diélectrique sur les paramètres d'activation du mode à basse température des mutants

L'ensemble des échantillons de plantes mutantes a été étudié par courants thermostimulés. Par soucis de clarté les résultats de chacun des échantillons à basse température seront présentés sur des figures différentes. La figure V-20 présente l'analyse du mutant CAD C/D par le critère de Starkweather. L'évolution de l'enthalpie d'activation en fonction de la température est présentée de -150°C à -80°C. Nous observons une brisure à -115°C. Cette brisure souligne deux comportements différents. Les points de 2 à 7 sont proches mais au-dessous de la droite de Starkweather. Alors que les points de 8 à 13 interceptent la droite de Starkweather. Dans les deux cas, les résultats expérimentaux mettent en évidence des mouvements localisés non coopératifs. Le diagramme de compensation de la figure V-21 (Annexes V-5 & V-6 p.197) confirme les résultats précédents en montrant deux droites distinctes avec des pentes différentes traduisant deux phénomènes de compensation. En comparant les gammes de températures et d'enthalpies (Figure V-20) aux résultats obtenus sur les polymères pariétaux, nous pouvons attribuer les modes de relaxation. Respectivement dans l'ordre des températures croissantes le mode γ de la cellulose et le mode β de la lignine sont déterminés. Cependant leurs réponses à l'intérieur du composite naturel peuvent différer à cause de la modification génétique.

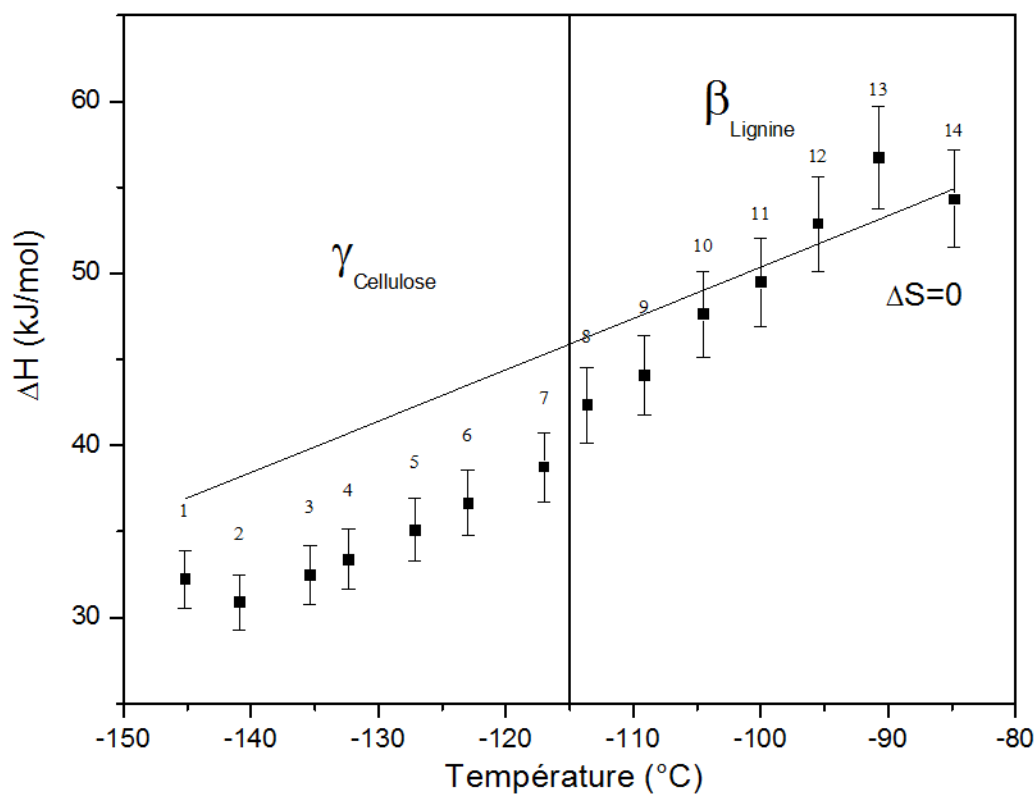


Figure V-20 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH des modes de relaxation secondaire du mutant CAD C/D

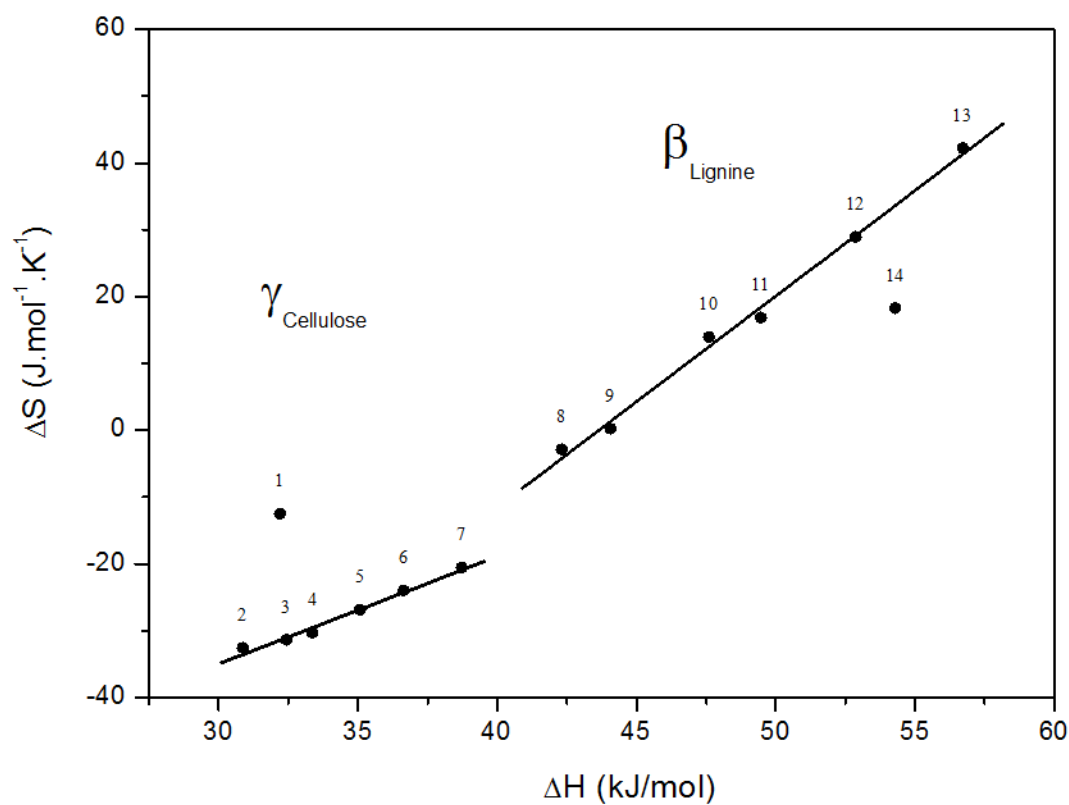


Figure V-21 : Diagramme de compensation des modes de relaxation secondaire du mutant CAD C/D

La figure V-22 présente l'analyse à basse température du mutant DML6 par le critère de Starkweather. L'évolution de l'énergie d'activation en fonction de la température est présentée de -100°C à -40°C . Les points expérimentaux de 1 à 12 se décalent progressivement de la droite de Starkweather traduisant une coopérativité naissante de ce mode de relaxation. Le diagramme de compensation de la figure V-23 (Annexes V-9 & V-10 p.199), représentant l'évolution de l'entropie en fonction de l'enthalpie, confirme la présence d'un seul mode de relaxation. Donc le mutant DML6 possède un seul mode de relaxation à basse température avec un caractère coopératif naissant. Ce comportement a déjà été observé pour le mode β de la cellulose (cf. Chapitre 3 Figure III-12 p.84). En comparant ces deux comportements nous pouvons assigner le mode basse température du mutant DML6 au mode β de la cellulose. Contrairement au CAD C/D la modification génétique réalisée sur le DML6 favorise l'expression du mode de relaxation β de la cellulose au sein du composite végétal.

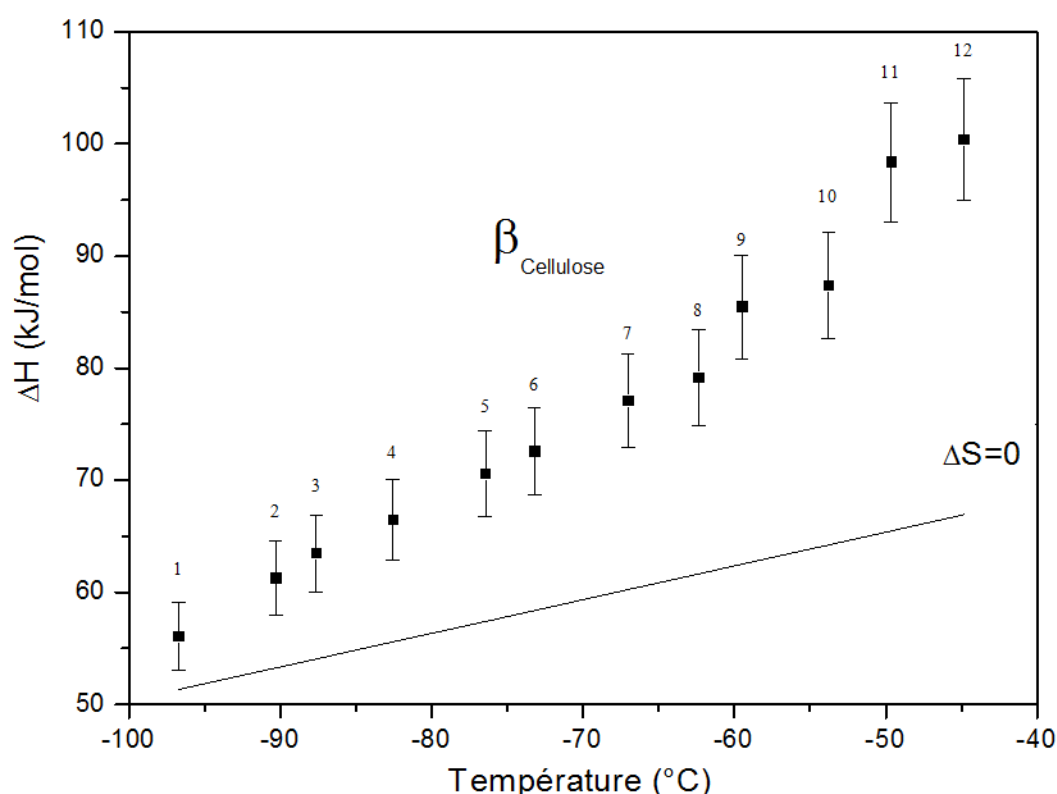


Figure V-22 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH du mode de relaxation secondaire du mutant DML6

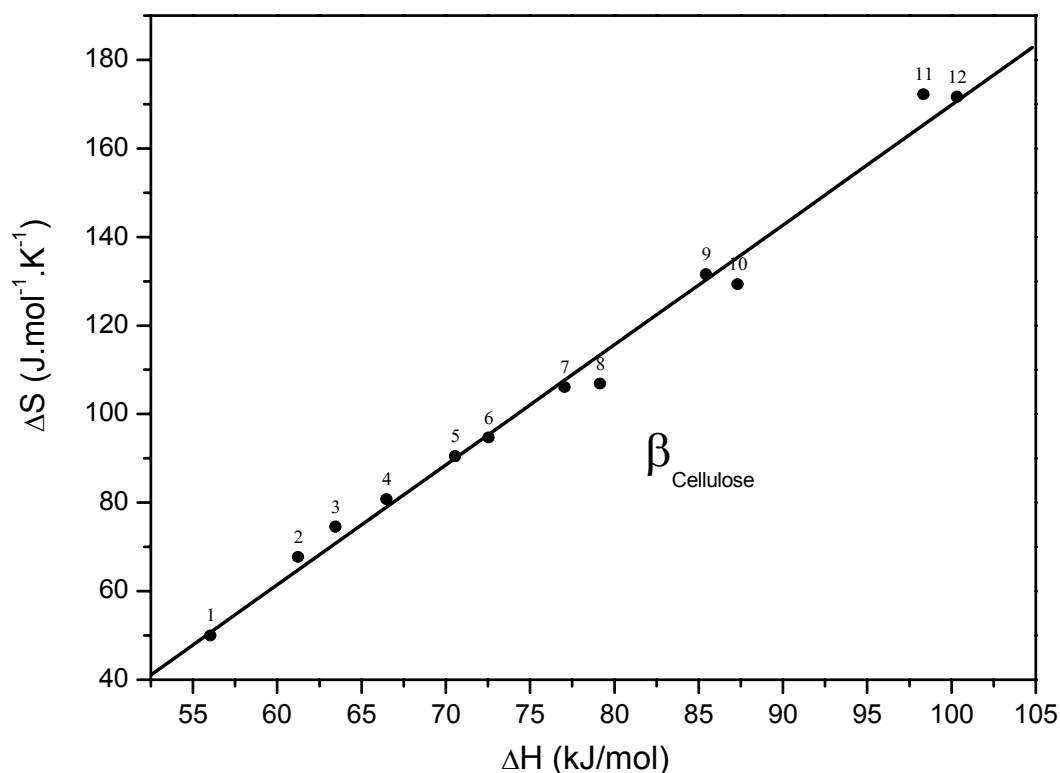


Figure V-23 : Diagramme de compensation du mode de relaxation secondaire du mutant DML6

La figure V-24 présente les résultats de l'évolution en température de l'enthalpie pour les basses températures du mutant EBL 87. Cette figure révèle la présence de trois séries de points de -130°C à -100°C , de -100°C à -85°C et de -85°C à -60°C . Chaque série de point est proche de la droite de Starkweather et seule la série de -85°C à -60°C s'écarte de la droite. Cet écartement est caractéristique d'un caractère coopératif naissant. Ce graphique met en évidence trois modes de relaxation localisés dont deux non coopératifs et un coopératif. En s'appuyant sur le diagramme de compensation de la figure V-25 (Annexes V-13 & V-14 p.201) sur lequel nous observons trois demi-droites de compensation et sur les résultats du chapitre 3 (sur les polymères pariétaux Figure III-12 p.84) et du chapitre 5 (sur l'Arabidopsis Thaliana naturelle Figure V-12 p.141) ; les trois modes de relaxation peuvent être attribués respectivement par ordre des températures croissantes aux modes γ de la cellulose, β de la lignine et β de la cellulose. Le mutant EBL 87 révèle tout comme la plante naturelle les mêmes modes de relaxation avec un comportement différent. Nous reviendrons sur ce point lors de la discussion.

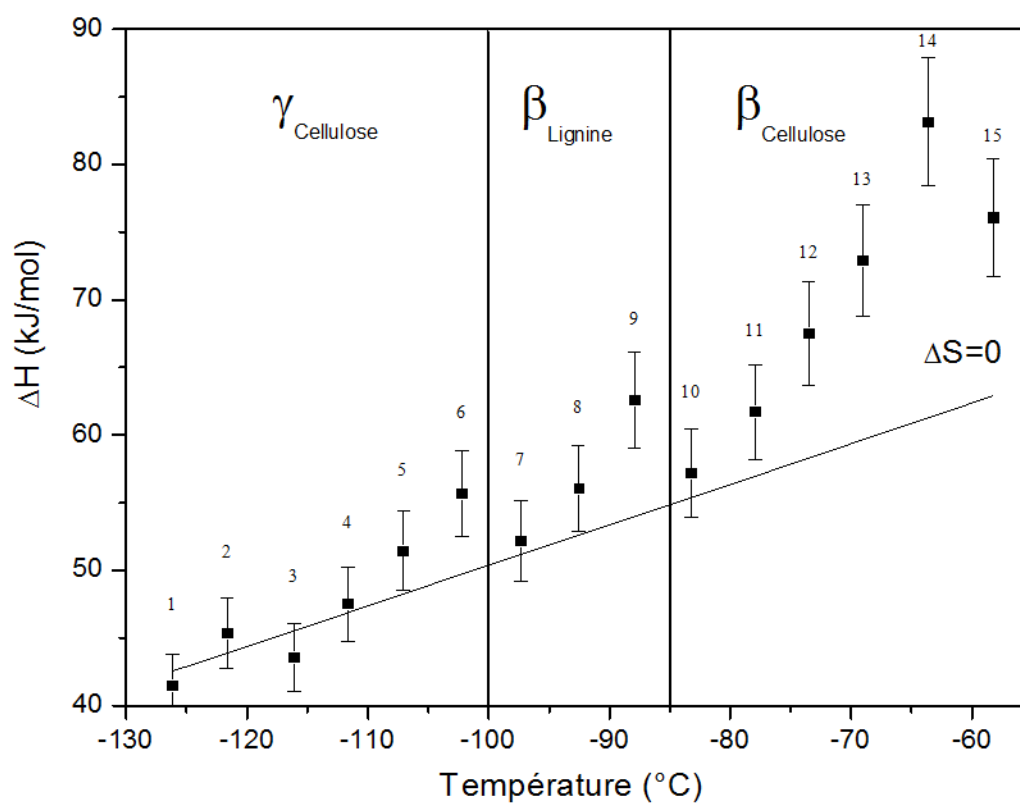


Figure V-24 : Evolution en température de l'enthalpie d'activation ΔH des modes de relaxation secondaire du mutant EBL 87

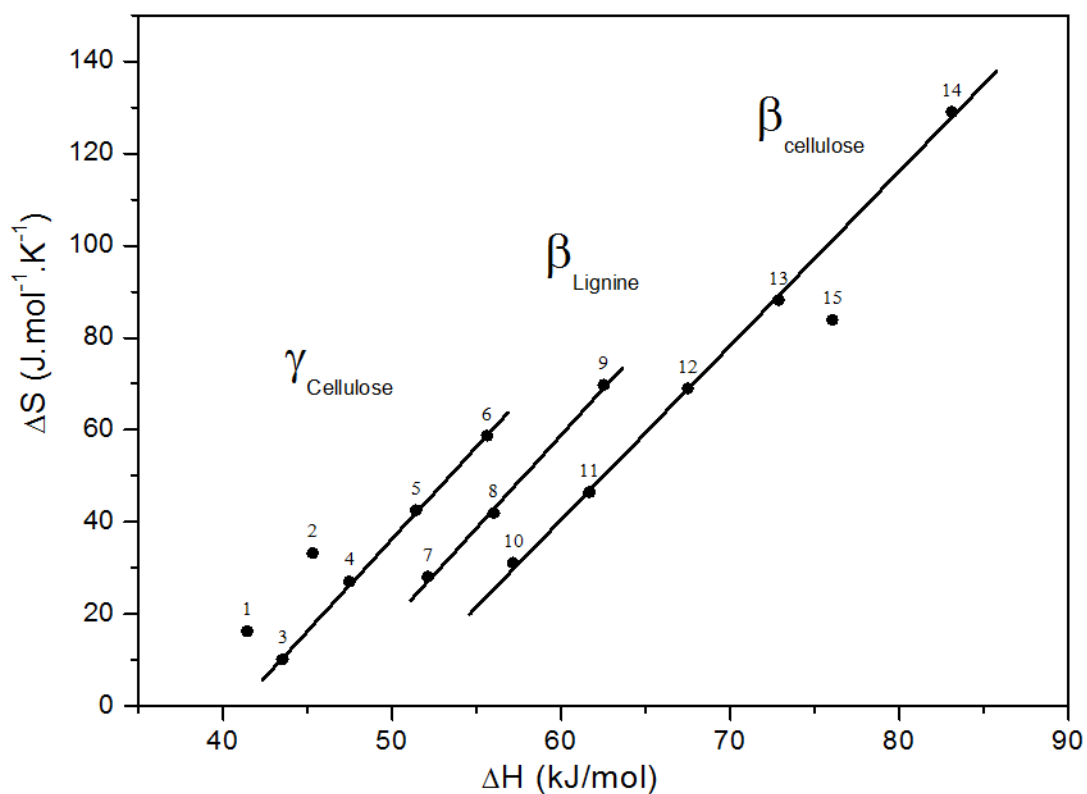


Figure V-25 : Diagramme de compensation des modes de relaxation secondaire du mutant EBL 87

D'après les résultats précédents, la modification génétique DML6 favorise l'expression du mode de relaxation β de la cellulose et donc par voie de conséquence inhibe celle de la lignine. Les mutants CAD C/D et EBL 87 ne semblent pas favoriser à basse température l'expression d'une relaxation associée à la lignine ou à la cellulose puisque nous observons les modes de relaxations de ces deux polymères pariétaux.

III. Discussion

III.1 Influence des modifications génétiques sur les structures chimique et physique

III.1.1 Structure chimique

La stabilité thermique de la paroi végétale dépend de la structure chimique de ces constituants principaux ; plusieurs études [118, 143, 144] ont montré que la lignine est plus stable que la cellulose, cette dernière étant plus stable que l'hémicellulose. Une autre étude sur le bois et ses polymères pariétaux [131, 142] positionne la cellulose comme plus stable devant le bois, la lignine et l'hémicellulose. La stabilité thermique de la paroi végétale dépend essentiellement de la cellulose et la lignine.

Dans cette étude, afin d'étudier l'influence des modifications génétiques, les propriétés de l'*Arabidopsis Thaliana* naturelle sont comparées à celle des mutants. Toutes les modifications génétiques tendent à diminuer l'expression des gènes susceptibles de synthétiser la lignine excepté la modification génétique nommée EBL 87 qui a l'objectif opposé. D'après les analyses thermogravimétriques précédentes, les teneurs en eau de la plante naturelle et de ses mutants, stockés dans les mêmes conditions hygrométriques, varient de 4 à 5%. Par conséquent les modifications génétiques n'influencent pas la prise en eau. Cependant il est intéressant de noter que le maximum de désorption d'eau est atteint à 73°C pour la plante naturelle et à des températures de plus en plus faibles respectivement pour les mutants CAD C/D, EBL 87 et DML6 (Tableau V-2). Les mutants possèdent une organisation structurale différente, développant moins d'interactions avec l'eau et favorisant la désorption à des températures plus basses.

Au niveau de la dégradation, le comportement entre les plantes naturelles et modifiées varie de manière remarquable. En effet, la plante naturelle atteint son maximum de pic de dégradation à 325°C (Figure V-1), les modifications génétiques susceptibles de diminuer le taux de lignine ont des maxima des pics de dégradation à une température plus basse respectivement 311°C pour DML6 et 316°C pour CAD C/D. La modification génétique EBL 87 qui est susceptible d'augmenter le taux de lignine conduit au maximum du pic de dégradation à 320°C. Cette valeur est voisine de celle de la plante naturelle. Les modifications génétiques influencent donc la stabilité thermique de la plante. Toutefois si nous pouvons constater une diminution de la stabilité thermique quand le taux de lignine est susceptible de diminuer, elle n'augmente pas lorsque le taux de lignine est susceptible d'augmenter.

III.1.2 Structure physique

La structure physique est conditionnée par la température de transition vitreuse T_g . Au voisinage de cette température les propriétés macroscopiques du matériau évoluent de façon considérable. L'histoire thermique du matériau et sa teneur en eau sont susceptibles de la modifier. La transition vitreuse de la paroi végétale dépend de ses paramètres et il n'est pas évident de la déterminer. Certains auteurs comme Lin et al. [145] ont estimé la T_g de la paroi végétale de haricot vert saturé d'eau à 52,9°C ; Georget et al. ont déterminé une gamme de T_g de 40°C à 60°C pour la paroi végétale du raisin hydratée respectivement de 11% à 5%. D'autres auteurs n'y parviennent pas, Aguilera et al. [146] n'ont observé aucune transition vitreuse pour la paroi végétale de la pomme. D'après eux le faible pourcentage de phase amorphe n'engendre pas de saut de capacité calorifique assez important pour être détecté en analyse calorimétrique diatherme.

Dans ce travail, la température de transition vitreuse de l'*Arabidopsis Thaliana* naturelle déshydratée est déterminée à 76°C avec un $\Delta C_p = 0,17 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$. Nous pouvons comparer la valeur de la plante naturelle à celle des mutants CAD C/D ($T_g = 79^\circ\text{C}$; $\Delta C_p = 0,13 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$) et EBL 87 ($T_g = 79^\circ\text{C}$; $\Delta C_p = 0,12 \text{ J.g}^{-1}.\text{°C}^{-1}$). La transition vitreuse de l'*Arabidopsis Thaliana* est très peu affectée par les modifications génétiques. La position en température de la transition vitreuse diminue d'environ 3°C. Les modifications génétiques anti - plastifient légèrement la transition vitreuse de la plante naturelle. D'après les résultats du chapitre 3 sur les polymères pariétaux,

la température de transition vitreuse de l'*Arabidopsis Thaliana* se trouve comprise entre celle de la lignine ($T_g = 72^\circ\text{C}$) et celle de la cellulose ($T_g = 84^\circ\text{C}$).

III.2 Influence des modifications génétiques sur la mobilité moléculaire

III.2.1 Mobilité moléculaire délocalisée

La manifestation mécanique ou diélectrique de la transition vitreuse de la paroi végétale a été déterminée par plusieurs auteurs. Sur la paroi végétale de carotte, Georget et al. [60,61] ont mesuré par AMD la température T_α entre 55 et 70°C pour des teneurs en eau respectivement comprises entre 10 et 5%. Deux modes α_1 et α_2 , attribués à des mouvements délocalisés associés à la transition vitreuse, ont été détectés par Kelley et al. en AMD [147] sur des échantillons de bois de sapin. Le mode α_1 correspond aux mouvements des séquences macromoléculaires de la lignine et le mode α_2 à celles de l'hémicellulose. Une autre étude menée sur le bois de peuplier par Jafarpour et al. [142], attribue l'origine moléculaire des modes α_1 et α_2 respectivement à la lignine et la cellulose par combinaison des résultats CTS-SDD.

Deux modes de relaxation α_1 et α_2 ont également été mis en évidence sur l'*Arabidopsis Thaliana* naturelle. La figure V-26 présente le diagramme d'Arrhenius de la plante avec la corrélation des résultats ACD, CTS et SDD. L'extrapolation à basse fréquence des temps de relaxation moyens en SDD intercepte les temps de relaxation CTS correspondant au mode de relaxation α_2 . La température de transition vitreuse obtenue par calorimétrie diatherme se trouve dans le domaine du mode α_2 . D'après la littérature, l'origine moléculaire de ce mode est attribuée à la cellulose. Cependant l'extrapolation à basse fréquence des résultats de SDD n'intercepte pas les temps de relaxation CTS au niveau de la T_g déterminée par ACD. Nous pouvons observer un décalage entre la corrélation ACD-CTS et CTS-SDD. Le mode α_2 lié à la cellulose est bien défini mais il est perturbé par l'influence du mode α_1 lié à la lignine. La spectroscopie diélectrique dynamique ayant une résolution plus faible pour ce type de matériau, les mesures obtenues après un traitement analytique de Kramers-Kronig correspondent à la résultante des deux modes de relaxation α .

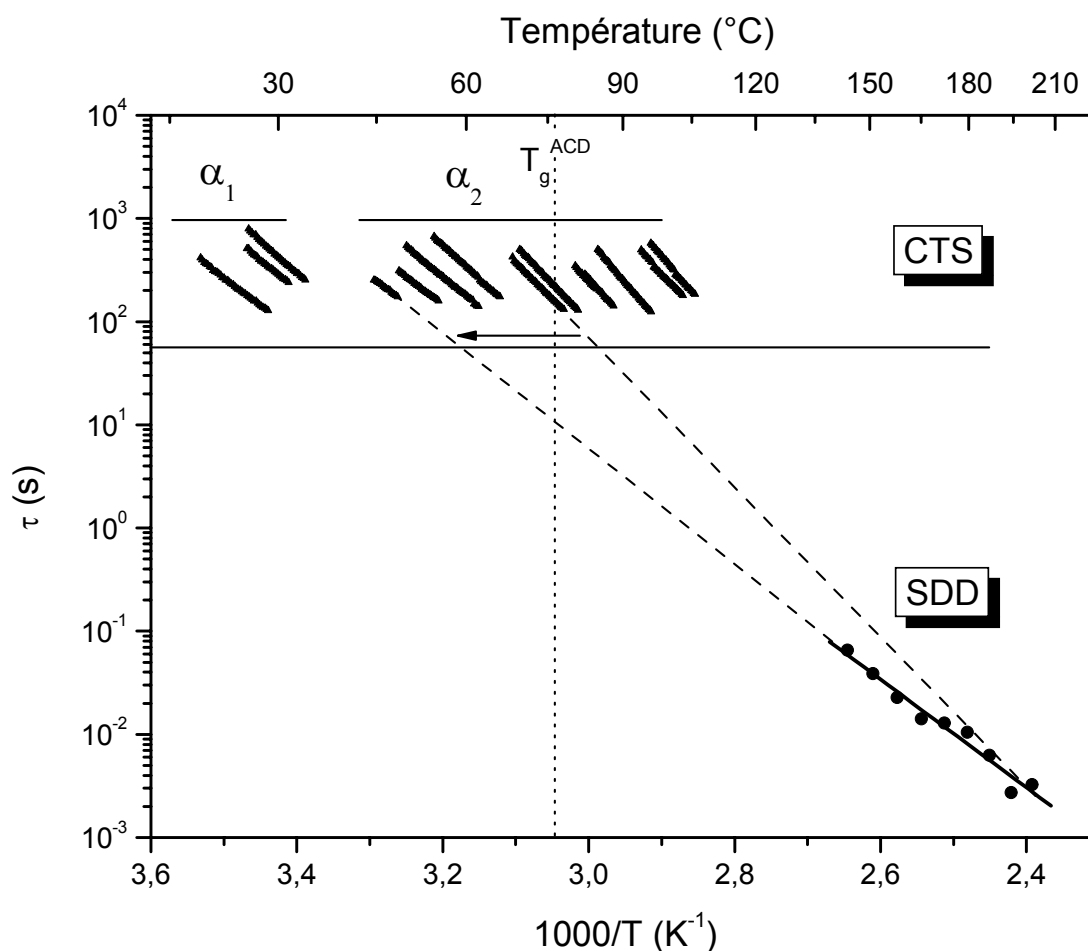


Figure V-26 : Combinaison des résultats obtenus par ACD, SDD et CTS du mode haute température de l'*Arabidopsis thaliana*

De plus l'extrapolation des données ACD intercepte la série des temps de relaxation correspondant à l'élémentaire maximal du mode α_2 . L'analyse calorimétrique diatherme ne détecte qu'une seule transition vitreuse dans cette gamme de température associée à la cellulose. Même si les transitions vitreuses de la cellulose et de la lignine sont proches (cf. Chapitre 3 Figures III-25 p.97 et III-27 p.100), celle de l'*Arabidopsis thaliana* possède une forte composante de la cellulose influencée par la lignine.

Au niveau des plantes génétiquement modifiées, la mobilité moléculaire délocalisée est définie par un seul mode de relaxation α coopératif pour chaque espèce. D'après les figures V-6 (p.135) et V-17 (p.149), nous pouvons remarquer que les gammes d'enthalpies et d'entropies des mutants CAD C/D et EBL 87 sont supérieures à celles de la plante native sauvage ; pour le DML6 elles sont du même ordre de grandeur.

Les modifications génétiques CAD C/D et EBL 87 augmentent donc la longueur des séquences de chaînes mobiles par rapport à la plante naturelle.

III.2.2 Mobilité moléculaire localisée

Sur la paroi végétale de carotte, Georget et al. [60,61] ont détecté par AMD à -50°C un mode de relaxation nommé β lié à des mouvements locaux de polysaccharides composant la paroi végétale. Sur la paroi végétale de sapin, Kelley et al. [147] ont aussi enregistré un mode de relaxation secondaire β entre -90°C et -110°C caractéristique de mouvements localisés. Sur la paroi végétale de peuplier, Jafarpour et al. [131] ont mis en évidence deux modes de relaxation secondaire aux basses températures γ et β comparables à ceux observés sur la cellulose. Comme nous l'avons vu précédemment, le mode de relaxation γ est attribué à la mobilité des groupements latéraux de type $-\text{OH}$ et $-\text{CH}_2\text{OH}$ pour la cellulose et le mode de relaxation β à la mobilité des segments de chaînes via les liaisons β_{1-4} glucosidiques [73-81].

La spectroscopie diélectrique dynamique n'ayant pas une résolution suffisante pour ce type de matériau, notre étude des modes de relaxation secondaire s'appuie essentiellement sur la technique de courants thermostimulés. A basse température, les résultats des figures V-12 (p.141) et V-13 (p.142) dévoilent pour la plante native sauvage trois modes non coopératifs attribués respectivement à $\gamma_{\text{Cellulose}}$, β_{Lignine} et $\beta_{\text{Cellulose}}$. L'anti-compensation observée à la figure V-13 (p.142) sur le mode $\gamma_{\text{Cellulose}}$ est caractéristique de la cellulose comme nous l'avons vu au chapitre précédent. Les plantes modifiées présentent à basse température selon la mutation un, deux ou trois modes de relaxation. La modification génétique EBL 87 susceptible d'augmenter le taux de lignine possède trois modes de relaxation secondaire qui sont respectivement $\gamma_{\text{Cellulose}}$, β_{Lignine} et $\beta_{\text{Cellulose}}$, c'est-à dire les mêmes relaxations observées sur la plante native sauvage. Cependant ces modes de relaxation sont non coopératifs (Figure V-12 p.141) sur la plante sauvage alors qu'une coopérativité naissante est observable pour le mutant EBL 87 sur chacun des trois modes (Figure V-24 p.156). De plus la coopérativité est beaucoup plus importante pour le mode $\beta_{\text{Cellulose}}$. La modification génétique EBL 87 favorise donc la coopérativité des segments de chaînes. Les autres modifications génétiques susceptibles de diminuer le taux de lignine présentent des comportements différents. Le mutant CAD C/D

possède deux modes de relaxation secondaire attribués à la cellulose γ et la lignine β (Figures V-20 & V-21 p.153). Cette mutation ne favorise pas un polymère pariétal plus que l'autre. En revanche l'autre mutation DML6 (Figures V-22 p.154 et V-23 p.155) favorise très nettement la cellulose puisque elle souligne uniquement le mode $\beta_{\text{Cellulose}}$. Comme nous l'avons vu au chapitre 2, la limitation du gène CAD C/D a pour conséquence de diminuer les teneurs des unités constitutives de la lignine S et G et d'incorporer les aldéhydes sinapaldéhyde et coniféraldéhyde. Ces aldéhydes possèdent une fonction alcool en position para contrairement aux unités S et G. La proportion de fonction alcool augmente au sein de la lignine de ce mutant. La figure V-20 montrant l'évolution de l'enthalpie d'activation en fonction de la température des modes de relaxation secondaire du mutant CAD C/D présente une continuité de comportement entre le mode de relaxation associée aux groupements latéraux de la cellulose et celui de la lignine. De plus le diagramme de compensation de la figure V-21 (p.153) montre que les deux phénomènes de compensation associés aux deux modes de relaxation sont décrits par des segments de droites quasi continus. Ces particularités ne sont pas observées sur les données des deux autres mutants (Figures V-22 à V-25) ainsi que l'*Arabidopsis Thaliana* à l'état natif sauvage (Figure V-13 p.142). Ces résultats nous permettent de lier le mode de relaxation β de la lignine aux fonctions $-OH$ de celle-ci. Ces fonctions favorisent le réseau de liaisons hydrogène. Comme sur la figure IV-7 (p.114), lorsque la teneur en eau augmente dans la cellulose, le mode de relaxation associé à la mobilité des cycles de glucose se trouve masqué par celui associé aux groupements polaires $-OH$ et $-CH_2OH$. L'étude de la mobilité moléculaire locale permet de différencier les mutants et de suivre l'influence de la modification génétique à l'échelle moléculaire.

Conclusion

L'objectif de ce travail de thèse a été d'étudier l'influence de l'eau et des modifications génétiques sur la structure dynamique d'un modèle de la paroi végétale : l'*Arabidopsis Thaliana*. La synergie des techniques d'analyses thermiques (Analyse Thermo Gravimétrique / ATG, Analyse Calorimétrique Diatherme / ACD) et diélectriques (Courant Thermo Stimulé / CTS, Spectroscopie Diélectrique Dynamique / SDD) s'est avérée bien adaptée à l'étude de la structure physique et du rôle des interactions inter et intramoléculaires des constituants de la paroi végétale.

Dynamique de la paroi végétale de l'*Arabidopsis Thaliana*

La **stabilité** thermique relative de l'*Arabidopsis Thaliana* est comprise entre celle de la lignine et celle de la cellulose. La comparaison des thermogrammes des polymères pariétaux avec celui de la plante a mis en évidence le rôle des liaisons inter et intramoléculaires établies entre les polymères pariétaux et son influence sur la stabilité du composite.

La **structure physique** de l'*Arabidopsis Thaliana* présente également un comportement intermédiaire entre celui de la lignine et de la cellulose. A l'état déshydraté, les mesures d'ACD mettent en évidence une transition vitreuse de la plante avec des paramètres T_g et ΔC_p inférieurs à ceux de la cellulose mais supérieurs à ceux de la lignine. Des résultats originaux ont été obtenus par ACD montrant l'influence de l'eau sur le comportement viscoélastique de la cellulose par l'analyse de la dépendance de sa transition vitreuse en fonction de l'hydratation. A l'échelle moléculaire, l'eau est liée par des liaisons hydrogène aux sites polaires des cycles glucosidiques. A l'échelle macroscopique, les molécules d'eau jouent le rôle de plastifiant pour la cellulose en diminuant sa T_g .

L'analyse de la **mobilité moléculaire délocalisée** de l'*Arabidopsis Thaliana* confirme l'hypothèse que sa transition vitreuse dépend des transitions vitreuses de ses principaux polymères pariétaux. Les deux modes de relaxation α de la cellulose et de la lignine sont dans la même gamme de température, avec un comportement de type Arrhenius qui traduit dans les deux cas, une très forte densité de liaison hydrogène. Par analogie avec les résultats de la littérature, la composante haute température a été associée à la cellulose et celle à basse température à la lignine.

La **mobilité moléculaire localisée** des polymères pariétaux extraits se retrouve dans le composite végétal. A basse température, le comportement du composite végétal est la résultante de celui de la cellulose et de la lignine puisque les modes de relaxation respectifs de la cellulose et de la lignine extraites sont détectés. L'étude combinée CTS-SDD nous permet de suivre l'évolution de la mobilité moléculaire localisée à l'état vitreux en fonction de l'hydratation. D'après la littérature, l'origine moléculaire du **mode de relaxation β** est associée à une mobilité localisée des liaisons glucosidiques β_{1-4} . Ce mode est caractérisé par une chute de l'entropie d'activation pour les plus hautes teneurs en eau, indiquant une localisation de la mobilité moléculaire. Comme la transition vitreuse, ce mode est plastifié par l'eau. Cette analogie s'explique par l'origine commune des deux mécanismes : la mobilité de la chaîne principale de cellulose. Ils se différencient par la taille des séquences mobiles.

D'après des travaux antérieurs, le **mode de relaxation γ** a été attribué à la mobilité moléculaire des groupements latéraux des cycles glucosidiques. Le comportement de ce mode avec l'hydratation est différent des précédents. La série des temps de relaxation correspondant à différents états d'hydratation suit une loi d'anti-compensation avec une enthalpie d'activation comparable à celle d'une liaison hydrogène. L'eau joue le rôle d'anti-plastifiant dans un réseau de liaisons hydrogène impliquant les groupements $-\text{CH}_2\text{OH}$ et $-\text{OH}$. Il est intéressant de noter qu'un tel arrangement est spécifique des biopolymères contenant des cycles glucosidiques.

Influence des modifications génétiques sur la dynamique de la paroi végétale

Pour analyser l'incidence des modifications génétiques, des échantillons de plante naturelle et de plantes mutantes dénommées DML6, CAD C/D et EBL 87 ont été étudiés. Les analyses thermogravimétriques montrent que la prise en eau de la paroi végétale n'est pas influencée par les modifications génétiques; par contre, les mutants ont une organisation structurale différente. Le maximum de désorption d'eau est atteint pour des températures de plus en plus faibles selon la mutation. Le classement des mutants et de la plante naturelle en fonction de la température de désorption d'eau croissante est le suivant :

$$\text{DML6} < \text{EBL 87} < \text{CAD C/D} < \text{Plante naturelle.}$$

De plus, la **tenue en température** de la paroi végétale change selon le mutant étudié. Les mutants se dégradent à des températures plus basses comparativement à la plante naturelle. Le classement de la plante naturelle et des mutants en fonction de la température de dégradation est le suivant :

$$\text{DML6} < \text{CAD C/D} < \text{EBL 87} < \text{Plante naturelle.}$$

L'étude de la **structure physique** de l'*Arabidopsis Thaliana* permet de suivre l'évolution de sa température de transition vitreuse. Par rapport à la plante naturelle, les mutants étudiés ont une température de transition vitreuse plus haute et présentent un saut de capacité calorifique plus petit. Les modifications génétiques anti-plastifient la transition vitreuse de la plante et diminuent les degrés de liberté de sa phase amorphe. Les modifications génétiques décalent la température de transition vitreuse de la plante vers celle de la cellulose. Elles favorisent donc l'influence de la cellulose dans le composite naturel.

L'analyse de la **mobilité moléculaire délocalisée** des plantes mutantes montre que la longueur des séquences mobiles varie d'une espèce à l'autre. Le classement des séquences mobiles les plus courtes aux plus longues est le suivant :

$$\text{Plante naturelle} \approx \text{DML6} < \text{EBL 87} < \text{CAD C/D.}$$

L'étude comparée de la **mobilité moléculaire locale** de la plante native sauvage avec ses mutants a permis de suivre l'influence de la modification génétique à l'échelle nanométrique. Le mutant EBL 87, synthétisé avec pour objectif d'augmenter le taux de lignine, possède les trois modes de relaxation secondaire observés sur la plante naturelle avec une coopérativité naissante. La mutation DML6 favorise la cellulose et plus particulièrement les cycles glucosidiques puisqu'un seul mode de relaxation secondaire est déterminé : le mode $\beta_{\text{Cellulose}}$. A contrario, pour le mutant CAD C/D, les modes $\gamma_{\text{Cellulose}}$ et β_{Lignine} sont mis en évidence. Cette mutation ne favorise pas un polymère pariétal plus que l'autre, mais plutôt les groupements polaires. L'augmentation de la proportion de fonction alcool dans ce mutant engendre un comportement spécifique sur les paramètres d'activation. Le développement du réseau de liaisons hydrogène dû, soit à la modification génétique,

soit à l'augmentation de la teneur en eau dans le matériau masque la mobilité moléculaire associée aux cycles de glucose.

Ces résultats montrent l'incidence dynamique des modifications génétiques DML6 et CAD C/D qui tendent à limiter l'expression des gènes susceptibles de synthétiser la lignine.

En **perspective**, le couplage entre la spectroscopie mécanique dynamique et le fluage thermostimulé permettrait de compléter cette approche, de modifier les stimuli et de changer la nature de la sonde. Nous pourrions ainsi établir des corrélations entre la mobilité moléculaire avec les propriétés mécaniques macroscopiques. L'exploration de différentes essences de bois avec des teneurs variables en cellulose, lignine et en eau est également envisagée.

Cette étude apporte des informations originales sur la dynamique moléculaire de la paroi végétale de l'*Arabidopsis Thaliana* et précise le rôle important des réseaux de liaisons hydrogène dans les biopolymères. La compréhension de l'organisation des polymères issus de la biomasse ainsi que leur synthèse est indispensable à l'élaboration de nouveaux matériaux, aussi performants que les polymères synthétiques utilisés aujourd'hui mais plus respectueux de l'environnement.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1] **Newman R.H, Ha M.A, Melton L.D**, *Solid-state C NMR investigation of molecular ordering in the cellulose of apple cell walls*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 1402-1406, 1994
- [2] **Park S, Venditi R.A, Abrecht D.G, Jameel H, Pawlak J.J, Lee J.M**, *Surface and pore structure modification of cellulose fibers through cellulose treatment*, Journal of Applied Polymer Science, 103, 3833-3839, 2007
- [3] **Cuissinat C, Navard P**, *Swelling and dissolution of cellulose part 1: free floating cotton and wood fibres in n-methylmorpholine-N-oxide-water mixtures*, Macromolecular symposia, 244, 1-18, 2006
- [4] **Klemm D, Philipp B, Heinze T, Heinze U, Wagenknecht W**, *Comprehensive Cellulose Chemistry, volume 1, Fundamentals and analytical methods*, Wiley, 1998
- [5] **Alfred D, Bertoniere R, Brown R.M, Chanzy H, Gray D, Hattori K, Glasser W**, *Cellulose*, Encyclopedia of Polymer Science and Technology, Wiley, 2003
- [6] **Groupe français d'études et applications des polymères (GFP)**, *Les polymères naturels : structure, modifications, applications ; Initiation à la chimie et à la physico-chimie macromoléculaires*, 13, Première édition, 2000
- [7] **Walton A.G, Blackwell J**, *Biopolymers*, Editions Academic Press, 1973
- [8] **Meyer K.H, Mish L**, *Position des atomes dans le nouveau modèle spatial de la cellulose*, Helvetica Chimica Acta, 20, 232-244, 1937
- [9] **Venderhart D, Atalla R.H**, *Studies of microstructure in native cellulose using solid-state*, Macromolecules, 17, 1465-1472, 1984
- [10] **Attala R.H, Vanderhart D.L**, *Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms*, Science, 223, 283-285, 1984
- [11] **Yildiz S, Gümüşkaya E**, *The effects of thermal modification on crystalline structure of cellulose in soft and hardwood*, Building and Environment, 42, 62-67, 2007
- [12] **Yamamoto H, Horii F, Odani H**, *Structure changes of native cellulose crystals induced by annealing in aqueous alkaline and acidic solutions at high temperature*, Macromolecules, 22, 4130-4132, 1989
- [13] **Reiter W.D, Chapple C, Somerville C.R**, *Mutants of Arabidopsis thaliana with altered cell wall polysaccharide composition*, The Plant Journal, 12, 335-345, 1997

-
- [14] **Darvill J.E, McNeil M, Darvill A.G, Albersheim P**, *Structure of plant cell walls. XI. Glucuronoarabinoxylan, a second hemicellulose in the primary cell walls of suspension-cultured sycamore cells*, Plant Physiology, 66, 1135-1139, 1980
 - [15] **Stephen A.M**, *Other plant polysaccharides. In The Polysaccharides*, Academic Press, New York, 2, 97-193, 1982
 - [16] **Rose J.K.C**, *The plant cell wall*, Annual plant Reviews, 8, 2003
 - [17] **O'Neill M.A, Eberhard S, Darvill A.G, Albersheim P**, *Requirement of borate cross linking of cell wall Rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth*, Science, 294, 846-849, 2001
 - [18] **O'Neill M.A, Ridley B.L, Mohnen D**, *Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signalling*, Phytochemistry, 57, 929-967, 2001
 - [19] **Perrone P, Hewage C.M, Thomson A.R, Bailey K, Sadler I.H, Fry S.C**, *Patterns of methyl and o-acetyl esterification in spinach pectins: new complexity*, Phytochemistry, 60, 67-77, 2002
 - [20] **Ishii T**, *O-Acetylated oligosaccharides from pectins of potato tuber cell walls*, Plant Physiology, 113, 1265-1272, 1997
 - [21] **Iiyama K, Lam T.T.B, Stone B.A**, *Covalent cross-links in the cell wall*, Plant Physiology, 104, 315-320, 1994
 - [22] **Baucher M, Christensen J.H, Meyermans H, Chen C, Doorselaere J.V, Leplé J.C, Pilate G, Petit-Conil M, Jouanin I, Chabbert B, Monties B, Montagu M.V, Boerjan W**, *Application of molecular genetic for biosynthesis of novels lignins*, Polymer Degradation and Stability, 59, 47-52, 1998
 - [23] **Fontanille M, Gnanou Y**, *Chimie et physico-chimie des polymères*, 14, 470-472, 2002
 - [24] **Mohanty A.K, Misra M, Drzal L.T, Selke S.E, Harte B.R, Hinrichsen G**, *Natural fibers, biopolymers and biocomposites*, 2005
 - [25] **Terashima N**, *A new mechanism for formation of a structurally ordered protolignin macromolecule in the cell wall of tree xylem*, Journal of Pulp and Paper Science, 16, 150-155, 1990
 - [26] **Terashima N, Nakashima J, Takabe K**, *Proposed structure of protolignin in plant cell wall, Lignin and lignan biosynthesis*, New Orleans, 14, 1998

- [27] **Delmas M**, *Vegetal refining and agrichemistry*, *Chemical Engineering and Technology*, 31, 792-797, 2008
- [28] **Banoub J.H**, *JMS Letters*, *Journal of Mass Spectrometry*, 38, 900-903, 2003
- [29] **Banoub J.H, Benjelloun-Mlayah B, Ziarelli F, Joly N, Delmas M**, *Elucidation of the complex molecular structure of wheat straw lignin polymer by atmospheric pressure photoionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry* *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 21, 2867–2888, 2007
- [30] **Roberts K**, *The plant extracellular matrix*, *Current Opinion in Cell Biology*, 1, 1020-1027, 1989
- [31] **Wyatt S.E, Carpita N.C**, *The plant cytoskeleton-cell-wall continuum*, *Trends in Cell Biology*, 3, 413-417, 1993
- [32] **Carpita N.C, Gibeaut D.M**, *Structural models of primary cell walls of flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the wall during growth*, *The plant Journal*, 3, 1-30, 1993
- [33] **Talbott L.D, Ray P.W**, *Molecular size and separability features of pea cell wall polysaccharides: implication for models of primary wall structure*, *Plant Physiology*, 98, 357-368, 1992
- [34] **McCann M.C, Roberts K**, *Architecture of the primary cell wall. In the cytoskeletal basis of plant growth and form*, Academic Press, London, 109-129, 1991
- [35] **McCann M.C, Roberts K**, *Changes in cell wall architecture during cell elongation*, *the Journal of Experimental Botany*, 45, 1683-1691, 1994
- [36] **Willats W.G.T, McCartney L, Mackie W, Knox J.P**, *Pectin: cell biology and prospects for functional analysis*, *Plant Molecular Biology*, 47, 9-27, 2001
- [37] **Hildén L**, *The characterisation of wood and wood fiber ultrastructure using specific enzymes*, *Doctoral thesis*, Swedish University of Agricultural Science, 2004
- [38] **Raven P.H, Evert R.F, Eichhorn S.E**, *Biologie Végétale, Bruxelles*, 2007, *Ouvrage original : The Biology of Plants*, New York and Basingstoke, 2005
- [39] **Cohen M.H**, *Molecular Transport in Liquids and Glasses*, *The Journal of Chemical Physics*, 31, 1164-1169, 1958
- [40] **Fujita H**, *Diffusion in Polymer-Diluent Systems*, *Fortschritte der Hochpolymeren-Forschung*, 3,1-47,1961

- [41] **Ramesh N, Duda J.L**, *A modified free-volume model: correlation of ion-conduction in strongly associating polymeric materials*, Journal of Membrane Science, 191, 13-30, 2001
- [42] **Zielinski J.M, Duda J.L**, *Predicting polymer/solvent diffusion coefficients using free-volume theory*, AlChE Journal, 38, 1992
- [43] **Crank J**, The mathematics of diffusion, 2nd Edition, Clarendon Press, Oxford, 1975
- [44] **Espert A, Vilaplana F, Karlsson S**, *Comparison of water absorption in natural cellulosic fibres from wood and one-year crops in polypropylene composites and its influence on their mechanical properties*, Composites: Part A, 35, 1267–1276, 2004
- [45] **Roussis P.P**, *Diffusion of water vapour in cellulose acetate: 1. Differential transient sorption kinetics and equilibria*, polymer, 22, 768-773, 1981
- [46] **Masaro L, Zhu X.X**, *Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids*, Progress in Polymer Science, 24, 731-775, 1999
- [47] **Szczesniak L, Rachocki A, Tritt-Goc J**, *Glass transition temperature and thermal decomposition of cellulose powder*, Cellulose, 15, 445-451, 2007
- [48] **Ford J.L**, *Thermal analysis of hydroxypropylmethylcellulose and methylcellulose: powders, gels and matrix tablets*, International Journal of Pharmaceutics, 179, 209–228, 1999
- [49] **Nakamura K, Hatakeyama T, Hatakeyama H**, *Studies on bound water of cellulose by differential scanning calorimetry*, Textile Research Journal, 607-613, 1981
- [50] **Hatakeyama H, Hatakeyama T**, *Interaction between water and hydrophilic polymers*, Thermochemica Acta 308, 3-22, 1998
- [51] **Ping Z.H, Nguyen Q.T, Chen S.M, Zhou J.Q, Ding Y.D**, *States of water in different hydrophilic polymers-DSC and FTIR studies*, Polymer, 42, 8461-8467, 2001
- [52] **Maeda Y, Kitano H**, *The structure of water in polymer systems as revealed by Raman spectroscopy*, Review in Spectrochimica Acta Part A, 51, 2433-2446, 1995
- [53] **Dias C.R, Norberta de Pinho M**, *Water Structure and Selective Permeation of Cellulose-Based Membranes*, Journal of Molecular Liquids, 80, 117-132, 1999

- [54] **Olsson A-M, Salmén L**, *The association of water to cellulose and hemicellulose in paper examined by FTIR spectroscopy*, Carbohydrate Research, 339, 813–818, 2004
- [55] **McCrystal C.B, Ford J.L, Rajabi-Siahboomi A.R**, *A study on the interaction of water and cellulose ethers using differential scanning calorimetry*, Thermochimica Acta, 294, 91-98, 1997
- [56] **Buonocore G.G, Del Nobile M.A, Di Martino C, Gambacorta G, La Notte E, Nicolais L**, *Modeling the water transport properties of casein-based edible coating*, Journal of Food Engineering, 60, 99–106, 2003
- [57] **Cotugno S, Mensitieri G, Musto P, Sanguigno L**, *Molecular Interactions in and Transport Properties of Densely Cross-Linked Networks: A Time-Resolved FT-IR Spectroscopy Investigation of the Epoxy/H₂O System*, Macromolecules, 38, 801-811, 2005
- [58] **Van der Wel G.K, Adan O.C.G**, *Moisture in organic coatings- a review*, Progress in Organic Coatings, 37,1-14, 1999
- [59] **Detallante V, Langevin D, Chappey C, Métayer M, Mercier R, Pinéri M**, *Water vapor sorption in naphthalenic sulfonated polyimide membranes*, Journal of Membrane Science 190, 227–241, 2001
- [60] **Georget D.M.R, Smith A.C, Waldron K.W**, *Low moisture thermo-mechanical properties of carrot cell wall components*, Thermochimica Acta, 315, 51-60, 1998
- [61] **Georget D.M.R, Smith A.C, Waldron K.W**, *Dynamic mechanical thermal analysis of cell wall polysaccharides extracted from lyophilised carrot Daucus Carota*, Carbohydrate Polymers, 48, 277-286, 2002
- [62] **Musto P, Ragosta G, Mensitieri G, Lavorgna M**, *On the Molecular Mechanism of H₂O Diffusion into Polyimides: A Vibrational Spectroscopy Investigation*, Macromolecules, 40, 9614-9627, 2007
- [63] **Mensitieri G, Lavorgna M, Musto P, Ragosta G**, *Water transport in densely crosslinked networks: A comparison between epoxy systems having different interactive characters*, Polymer, 47, 8326-8336, 2006

-
- [64] **Mensitieri G, Lavorgna M, Larobina D, Scherillo G, Ragosta G, Musto P**, *Molecular Mechanism of H₂O Diffusion into Polyimides: A Model Based on Dual Mobility with Instantaneous Local Nonlinear Equilibrium*, *Macromolecules*, 41, 4850-4855, 2008
- [65] **Wan L-S, Huang X-J, Xu Z-K**, *Diffusion and Structure of Water in Polymers Containing N-Vinyl-2-pyrrolidone*, *Journal of Physical Chemistry B*, 111, 922-928, 2007
- [66] **Gerschel A**, *Liaisons intermoléculaires, les forces en jeu dans la matière condensée*, InterEditions/CNRS Editions, Paris, 1995
- [67] **Franks F**, *Protein hydration in Characterization of proteins*, Humana Press, Clifton, 127-154, 1988
- [68] **Marque G**, *Absorption de l'eau par les polymères*, Thèse de l'Université de Savoie, 2009CHAMS11, 2009
- [69] **Yoshiba K, Teramoto A, Nakamura N, Shikata T, Miyazaki Y, Sorai M, Hayashi Y, Miura N**, *Water structures of differing order and mobility in aqueous solutions of schizophyllan, a triple-helical polysaccharide as revealed by dielectric dispersion measurements*, *Biomacromolecules*, 5, 2137-2146, 2004
- [70] **Pissis P**, *Water in polymers and biopolymers studied by dielectric techniques*, in *Electromagnetic aquametry*, ed. Springer, Berlin, 39-70, 2005
- [71] **Hayashi Y, Shinyashiki N, Yagihara S, Yoshiba K, Teramoto A, Nakamura N, Miyazaki Y, Sorai M, Wang Q**, *Ordering in aqueous polysaccharide solution. I. Dielectric relaxation in aqueous solutions of a triple-helical polysaccharide schizophyllan*, *Biopolymers*, 63, 21-31, 2002
- [72] **Kabir S.R, Yokoyama K, Mihashi K, Kodama T, Suzuki M**, *Hyper-mobile water is induced around actin filaments*, *Biophysical Journal*, 85, 3154-3161, 2003
- [73] **Einfeldt J, Meißner D, Kwasniewski A**, *Comparison of the molecular dynamics of celluloses and related polysaccharides in wet and dried states by means of dielectric spectroscopy*, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 201, 1969-1975, 2000
- [74] **Einfeldt J, Meißner D, Kwasniewski A, Gruber E, Henricks R**, *Dielectric spectroscopic results and chemical accessibility of sulfite pulps*, *Macromolecular Materials and Engineering*, 283, 7-14, 2000

- [75] **Meißner D, Einfeldt J, Kwasniewski A**, *Contributions to the molecular origin of the dielectric relaxation processes in polysaccharides – the low temperature range*, Journal of Non-Crystalline Solids, 275, 199-209, 2000
- [76] **Einfeldt J, Meißner D, Kwasniewski A**, *Polymer dynamics of cellulose and other polysaccharides in solid state-secondary dielectric relaxation processes*, Progress in Polymer Science, 26, 1419-1472, 2001
- [77] **Einfeldt J, Kwasniewski A**, *Characterization of different types of cellulose by dielectric spectroscopy*, Cellulose, 9, 225-238, 2002
- [78] **Einfeldt J, Meißner D, Kwasniewski A**, *Contributions to the molecular origin of the dielectric relaxation processes in polysaccharides – the high temperature range*, Journal of Non-Crystalline Solids, 320, 40-55, 2003
- [79] **Einfeldt J, Meißner D, Kwasniewski A**, *Molecular interpretation of the main relaxations found in dielectric spectra of cellulose – experimental arguments*, Cellulose, 11, 137-150, 2004
- [80] **Jafarpour G, Dantras E, Boudet A, Lacabanne C**, *Study of dielectric relaxations in cellulose by combined DDS and TSC*, Journal of Non-Crystalline Solids, 353, 4108-4115, 2007
- [81] **Jafarpour G, Roig F, Dantras E, Boudet A, Lacabanne C**, *Influence of water on localized and delocalized molecular mobility of cellulose*, Journal of Non-Crystalline Solids, 355, 1669–1672, 2009
- [82] **Boudet A-M, Kajita S, Grima-Pettinati J, Goffner D**, *Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses*, Review TRENDS in Plant Science, 8, 12, 2003
- [83] **Ralph J, Lapierre C, Marita J.M, Kim H, Lu F, Hatfield R.D, Ralph S, Chapple C, Franke R, Hemm M.R, Doorselaere J.V, Sederoff R.R, O'Malley D.M, Scott J.T, MacKay J.J, Yahiaoui N, Boudet A-M, Pean M, Pilate G, Jouanin L, Boerjan W**, *Elucidation of new structures in lignins of CAD- and COMT-deficient plants by NMR*, Phytochemistry, 57, 993–1003, 2001
- [84] **Jouanin L, Lapierre C**, *Avantages et limites d'Arabidopsis thaliana pour l'étude des premières étapes de la lignification*, Cahiers Agricultures, 15, 179-185, 2006

-
- [85] **Goujon T, Sibout R, Pollet B, Maba B, Nussaume L, Bechtold N, Lu F, Ralph J, Mila I, Barrière Y, Lapierre C, Jouanin L**, *A new Arabidopsis thaliana mutant deficient in the expression of O-methyltransferase impacts lignins and sinapoyl esters*, Plant Molecular Biology, 51, 973–989, 2003
 - [86] **Boudet A-M**, *A new view of lignification*, Review TRENDS in Plant Science, 3, 2, 1998
 - [87] **Stewart J.J, Akiyama T, Chapple C, Ralph J, Mansfield S.D**, *The Effects on Lignin Structure of Overexpression of Ferulate 5-Hydroxylase in Hybrid Poplar*, Plant Physiology, 150, 621–635, 2009
 - [88] **Grima-Pettenati J, Goffner D**, *Lignin genetic engineering revisited*, Review in Plant Science, 145, 51-65, 1999
 - [89] **Sibout R, Eudes A, Mouille G, Pollet B, Lapierre C, Jouanin L, Séguin A**, *CINNAMYL ALCOHOL DEHYDROGENASE -C and -D Are the Primary Genes Involved in Lignin Biosynthesis in the Floral Stem of Arabidopsis*, The Plant Cell, 17, 2059–2076, 2005
 - [90] **Broido A**, *A simple sensitive graphical method of treating thermogravimetric analysis data*, Journal of Polymer Science: Part A-2, 7, 1761-1773, 1969
 - [91] **Jedrzejewski F**, *Modèles aléatoires et physique probabiliste*, Springer-Verlag, France, 2009
 - [92] **Mccrum N.G, Read B.E, Williams G**, *Anelastic and dielectric effects in polymeric solids*, Ed. J. Wiley, London, 1967
 - [93] **Ferry J.D**, *Viscoelastic properties of polymers*, Ed. J. Wiley, New-York, 1970
 - [94] **Williams M.L, Landel R.F, Ferry J.D**, *The temperature dependence of relaxation mechanisms in amorphous polymers and other glass-forming liquids*, Journal of the American Chemical Society, 77, 3701-3706, 1955
 - [95] **Havriliak S, Negami S**, *A complex plane analysis of α -dispersions in some polymer systems*, Journal of Polymer Science: Part C, 14 , 99-117, 1966
 - [96] **Havriliak S, Negami S**, *A complex plane representation of dielectric and mechanical relaxation processes in some polymers*, Polymer , 8, 161-210, 1967
 - [97] **Cole K.S, Cole R.H**, *Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics*, Journal of Chemical Physics, 9, 341-351, 1941

- [98] **Davidson D.W, Cole R.H**, *Dielectric relaxation in glycerine*, Journal of Chemical Physics, 18, 1417-1422, 1950
- [99] **Davidson D.W, Cole R.H**, *Dielectric relaxation in glycerol, propylene glycol, and n-propanol*, Journal of Chemical Physics, 19, 1484-1490, 1951
- [100] **Schlosser E, Schonhals A, Carius H-E, Goering H**, *Evaluation method of temperature-dependent relaxation behaviour of polymers*, Macromolecules, 26, 6027-6032, 1993
- [101] **Steeman P.A.M, Van Turnhout J**, *A numerical Kramers-Kronig transform for the calculation of dielectric relaxation losses free from ohmic conduction losses*, Colloid Polymer Science, 275, 106-115, 1997
- [102] **Bucci C, Fieschi R, Guildi G**, *Ionic thermocurrents in dielectrics*, Physical review, 148, 816-823, 1966
- [103] **Teyssède G, Mezghani S, Bernès A, Lacabanne C**, *Thermally stimulated currents of polymer*, in dielectric spectroscopy of polymeric materials : fundamentals and applications; Runt J.P & Fitzgerald J.J; Ch.8, 227-255, 1997
- [104] **Samouillan S, André C, Dandurand J, Lacabanne C**, *Effect of water on the molecular mobility of elastin*, Biomacromolecules, 5, 958-964, 2004
- [105] **Starkweather H.W**, *Simple and complex relaxations*, Macromolecules, 14, 1277-1281, 1981
- [106] **Starkweather H.W.J**, *β relaxations in phenylene polymers*, Macromolecules, 22, 4060-4062, 1989
- [107] **Starkweather H.W.J**, *Distribution of activation enthalpies in viscoelastic relaxations*, Macromolecules, 23, 328-332, 1990
- [108] **Meyer W, Neldel H**, *Über die beziehungen zwischen der energie konstanten ε und der mengenkonstanten a in der leitwerts-temperaturformel bei oxydischen halbleitern*, Z.Tech. Physik, 12, 588, 1937
- [109] **Yelon A, Movaghar B, Branz H.M**, *Origin and consequences of the compensation (Meyer-Neldel) law*, Physical Review B, 46, 12244-12250, 1992
- [110] **Crine J.P**, *A thermodynamic model for the compensation law and its physical significance for polymers*, Journal of Macromolecular Science: Part B, 23, 201-219, 1984

- [111] **Crine J.P**, *On the interpretation of some electrical aging and relaxation phenomena in solid dielectrics*, IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation, 12, 1089-1107, 2005
- [112] **Hoffman J.D, Williams G, Passaglia E**, *Analysis of the α , β , and γ relaxations in polychlorotrifluoroethylene and polyethylene: Dielectric and mechanical properties*, Journal of Polymer Science: Part C, 14, 173- 235, 1966
- [113] **Aminabhavi T.M, Phayde H.T.S, Ortego J.D, Vergnaud J.M**, *Sorption/diffusion of aliphatic esters into tetrafluoroethylene/propylene copolymeric membranes in the temperature interval 25 to 70°C*, European Polymer Journal, 32, 9, 1117-1126, 1996
- [114] **Espert A, Vilaplana F, Karlsson S**, *Comparison of water absorption in natural cellulosic fibres from wood and one-year crops in polypropylene composites and its influence on their mechanical properties*, Composites, Part A, 35, 1267-1276, 2004
- [115] **Soares S, Caminot G, Levchik S**, *Comparative study of the thermal decomposition of pure cellulose and pulp paper*, Polymer Degradation and Stability, 49, 275-283, 1995
- [116] **Devallencourt C, Saiter J.M, Capitaine D**, *Characterization of recycled celluloses: thermogravimetry/Fourier transform infra-red coupling and thermogravimetry investigations*, Polymer Degradation and Stability, 52, 327-334, 1996
- [117] **Xiao B, Sun X.F, Sun R**, *The chemical modification of lignins with succinic anhydride in aqueous systems*, Polymer Degradation and Stability, 71, 223-231, 2001
- [118] **Xiao B, Sun X.F, Sun R**, *Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw*, Polymer Degradation and Stability, 74, 307–319, 2001
- [119] **Yang H, Yan R, Chen H, Lee D.H, Zheng C**, *Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis*, Fuel, 86, 1781–1788, 2007
- [120] **Sun J.X, Sun X.F, Zhao H, Sun R.C**, *Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse*, Polymer Degradation and Stability, 84, 331-339, 2004

-
- [121] **Hatakeyama H, Tsujimoto Y, Zarubin M. Ja, Krutov S. M, Hatakeyama T**, *Thermal decomposition and glass transition of industrial hydrolysis lignin*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 101, 289-295, 2010
- [122] **Batzer H, Kreibich U.T**, *Influence of Water on Thermal Transitions in Natural Polymers and Synthetic Polyamides*, Polymer Bulletin, 5, 585-590, 1981
- [123] **Salmén N.L, Back E.L**, *The influence of water on the glass transition temperature of cellulose*, Tappi, 60, 137-140, 1977
- [124] **Hatakeyama T**, *Structure and properties of the amorphous region of cellulose*, Wood processing and utilization, Elis Horwood, 46-52, 1989
- [125] **Stubberud L, Arwidsson H.G, Larsson A, Graffner C**, *Water solid interactions II. Effect of moisture sorption and glass transition temperature on compactibility of microcrystalline cellulose alone or in binary mixtures with polyvinyl pyrrolidone*, International Journal of Pharmaceutics, 134, 79-88, 1996
- [126] **Gidley M.J, Cooke D, Ward-Smith S**, *Low moisture polysaccharide systems: thermal and spectroscopic aspects* in The glassy state in foods; Blanshard J.M.V, Lillford P.J, Eds. Nottingham University Press, Nottingham, England
- [127] **Maltini E, Torreggiani D, Venir E, Bertolo G**, *Water activity and the preservation of plant foods*, Food Chemistry 82, 79–86, 2003
- [128] **Hatakeyama T, Nakamura K, Hatakeyama H**, *Studies on heat capacity of cellulose and lignin by differential scanning calorimetry*, Polymer, 23, 1801-1804, 1982
- [129] **Corradini E, Gómez Pineda E.A, Winkler Hechenleitner A. A**, *Lignin-poly (vinyl alcohol) blends studied by thermal analysis*, Polymer Degradation and Stability 66, 199-208, 1999
- [130] **Kadla J.F, Kubo S**, *Lignin-based polymer blends: analysis of intermolecular interactions in lignin–synthetic polymer blends*, Composites: Part A, 35, 395–400, 2004
- [131] **Jafarpour Moghaddam G**, *Dynamique macromoléculaire dans la paroi végétale et ses polymères pariétaux*, Thèse de l'Université de Toulouse, 2007TOU30067, 2007
- [132] **Chevalier M, Dantras E, Tonon C, Guigue P, Lacabanne C, Puig C, Durin C**, *Correlation between sub-Tg relaxation processes and mechanical behavior*

for different hydrothermal ageing conditions in epoxy assemblies, *Journal of Applied Polymer Science*, 115, 1208–1214, 2010

[133] **Saad G.R, Sakamoto M, Furuhashi K.I**, *Dielectric study of β -relaxation in some cellulosic substances*, *Polymer International*, 41, 293-299, 1996

[134] **Saad G.R, Furuhashi K.I**, *Effect of substituents on dielectric β -relaxation in cellulose*, *Polymer International*, 42, 356-362, 1997

[135] **Steeman P. A. M, Van Turnhout J**, *Fine structure in the parameters of dielectric and viscoelastic relaxations*, *Macromolecules*, 27, 5421-5427, 1994

[136] **Banys J, Kinka M, Macutkevicius J, Völkel G, Böhlmann W, Umamaheswari V, Hartmann M, Andreas Pöppel A**, *Broadband dielectric spectroscopy of water confined in MCM-41 molecular sieve materials—low-temperature freezing phenomena*, *Journal of Physics: Condensed Matter*, 17, 2843-2857, 2005

[137] **Montès H, Cavaillé J.Y**, *Secondary dielectric relaxations in dried amorphous cellulose and dextran*, *Polymer*, 40, 2649–2657, 1999

[138] **Montès H, Mazeau K, Cavaillé J.Y**, *Secondary Mechanical Relaxations in Amorphous Cellulose*, *Macromolecules*, 30, 6977-6984, 1997

[139] **Montès H, Mazeau K, Cavaillé J.Y**, *The mechanical β relaxation in amorphous cellulose*, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 235-237, 416-421, 1998

[140] **Samouillan Valérie**, *Etude de la structure physique des biopolymères constitutifs du tissu cardio-vasculaire : application à la définition de biomatériaux*, Thèse de l'Université de Toulouse, 1999TOU30107, 1999

[141] **Lamure A, Harmand M.F, Lacabanne C**, *Micromechanical spectroscopy of cartilage proteoglycans : Hydration*, *Journal of Biomedical Materials Research*, 24, 735-747, 1990

[142] **Jafarpour G, Dantras E, Boudet A, Lacabanne C**, *Molecular mobility of poplar cell wall polymers studied by dielectric techniques*, *Journal of Non-Crystalline Solids*, 354, 3207-3214, 2008

[143] **Franceschi F, Luciano G, Carosi F, Cornara L, Montanari C**, *Thermal and microscope analysis as a tool in the characterisation of ancient papyri*, *Thermochimica Acta*, 418, 39-45, 2004

- [144] **Khezami L, Chetouani A, Taouk B, Capart R**, *Production and characterisation of activated carbon from wood components in powder : cellulose, lignin, xylan*, Powder Technology, 157, 48-56, 2005
- [145] **Lin L.S, Yuen H.K, Varner J.E**, *Differential scanning calorimetry of plants cell walls*, Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America, 88, 2241, 1991
- [146] **Aguilera J.M, Cuadros T.R, Del Valle J.M**, *Differential scanning calorimetry of low moisture apple products*, Carbohydrate Polymers, 37, 79-86, 1998
- [147] **Kelley S.S, Rials T.G, Glasser W.G**, *Relaxations behaviour of the amorphous components of wood*, Journal of Materials Science, 22, 617-624, 1987

Annexes

**Annexe III-1 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire de la cellulose obtenus
par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	25	29,2	141,0	193,5	1,2E-23	
2	30	38,0	136,7	165,6	3,5E-22	
3	35	41,8	123,0	114,9	1,5E-19	
4	40	47,8	122,7	106,4	4,1E-19	
5	45	52,6	121,0	95,0	1,6E-18	
6	50	58,9	118,2	78,9	1,1E-17	
7	55	63,1	114,7	63,5	6,9E-17	
8	60	69,8	113,7	52,8	2,4E-16	C
9	65	74,1	115,4	53,5	2,2E-16	C
10	70	78,6	119,2	59,9	1,0E-16	C
11	75	82,1	122,2	65,2	5,3E-17	C
12	80	86,8	127,7	76,0	1,4E-17	C
13	85	90,1	138,5	103,1	5,4E-19	C
14	90	94,0	140,9	105,5	4,1E-19	C
15	95	97,9	145,4	113,6	1,5E-19	C
16	100	100,0	148,6	120,0	6,9E-20	C
17	105	105,0	157,6	139,0	7,0E-21	C
18	110	110,6	161,4	142,9	4,3E-21	C
19	115	113,9	134,1	66,1	4,4E-17	

T_p : Température de polarisation

T_m : Température au maximum du thermogramme élémentaire

ΔH : Enthalpie d'activation

ΔS : Entropie d'activation

τ₀ : Facteur pré-exponentiel

Compensation : Cette colonne précise les données expérimentales appartenant à un phénomène de compensation

Annexe III-2 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire de la cellulose déshydratée obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ.mol ⁻¹)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	-165	-156,1	45,3	128,2	8,3E-20	
2	-160	-149,3	41,3	73,1	5,9E-17	
3	-155	-145,2	39,0	43,0	2,1E-15	
4	-150	-140,3	34,2	-7,8	9,3E-13	
5	-145	-135,4	34,3	-17,6	2,9E-12	C1
6	-140	-130,8	35,4	-18,6	2,6E-12	C1
7	-135	-126,4	38,7	-6,4	8,2E-13	C1
8	-130	-121,6	40,1	-2,9	4,5E-13	C1
9	-125	-116,9	41,9	0,5	2,9E-13	C1
10	-120	-112,7	45,7	17,1	3,8E-14	C1
11	-115	-107,3	46,9	21,5	3,0E-14	C1
12	-110	-102,9	51,5	34,9	4,2E-15	C1
13	-105	-98,0	54,8	45,6	1,1E-15	C1
14	-100	-92,9	62,5	81,0	1,6E-17	C1
15	-95	-87,3	60,4	56,7	2,8E-16	
16	-90	-81,8	65,2	72,9	3,9E-17	
17	-85	-75,6	75,3	116,1	2,1E-19	
18	-80	-72,1	80,8	183,5	6,2E-23	
19	-75	-68,3	82,2	134,4	2,2E-20	
20	-70	-61,2	86,2	133,2	2,7E-20	C2
21	-65	-59,0	87,5	140,5	1,0E-20	C2
22	-65	-56,4	89,3	146,0	5,1E-21	C2
23	-55	-50,0	96,0	161,9	7,5E-22	C2
24	-50	-45,7	116,6	248,3	2,3E-26	C2
25	-45	-41,1	125,1	277,4	6,7E-28	C2
26	-40	-36,6	147,0	360,4	3,0E-32	C2

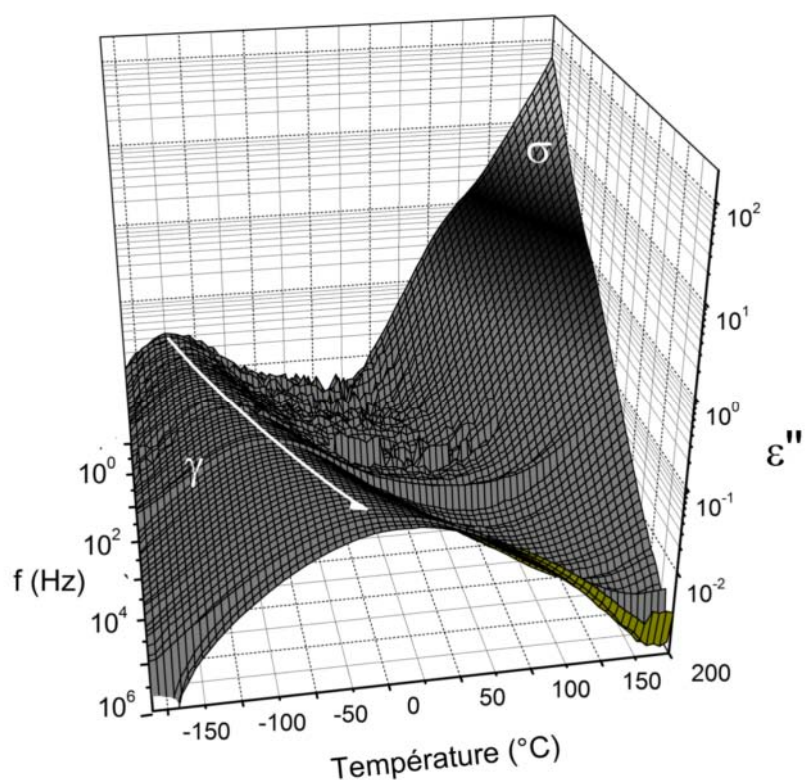
Annexe III-3 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire de la lignine obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	40	49,6	122,5	104,3	5,3E-19	
2	45	52,8	116,2	79,4	1,0E-17	C
3	50	59,2	118,5	79,2	1,1E-17	C
4	55	65,7	122,9	85,1	5,1E-18	C
5	60	70,1	125,8	88,6	3,3E-18	C
6	65	73,2	128,8	94,1	1,7E-18	C
7	70	83,5	134,1	99,4	8,6E-19	C
8	75	88,3	139,8	111,3	2,0E-19	C
9	80	91,2	142,6	115,7	1,2E-19	C

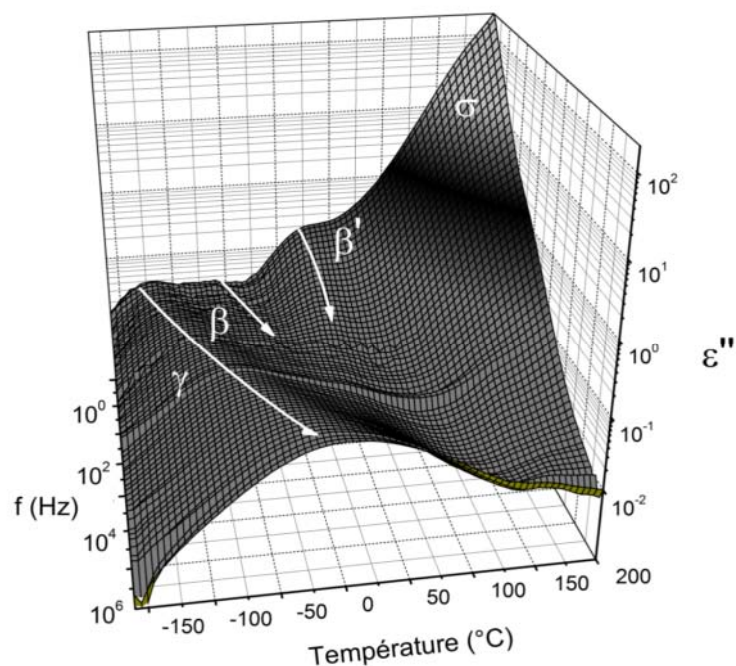
Annexe III-4 : Paramètres d'activation du mode de relaxation secondaire de la lignine obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T_p (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ_0 (s)	Compensation
1	-140	-121,7	36,8	-25,4	6,8E-12	
2	-135	-117,7	38,8	-18,5	2,9E-12	
3	-130	-111,2	38,7	-30,8	1,2E-11	C
4	-125	-108,9	39,5	-29,4	1,0E-11	C
5	-120	-102,4	42,6	-20,5	3,3E-12	C
6	-115	-98,8	45,3	-10,0	9,2E-13	C
7	-110	-94,1	46,9	-8,5	7,4E-13	C
8	-105	-89,7	49,1	-3,1	3,8E-13	C
9	-100	-83,7	52,8	8,6	9,0E-14	C
10	-95	-77,8	55,6	13,3	5,0E-14	C
11	-90	-76,9	55,7	12,8	5,2E-14	C
12	-85	-71,1	59,2	22,0	1,7E-14	C

Annexe IV-1 : Représentation tridimensionnelle de la partie imaginaire de la permittivité complexe de la cellulose pour un taux d'hydratation de 0%



Annexe IV-2 : Représentation tridimensionnelle de la partie imaginaire de la permittivité complexe de la cellulose pour un taux d'hydratation de 3%



Annexe IV-3 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire de la cellulose hydratée à 2,5% obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T_p (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ_0 (s)	Compensation
1	-160	-146,7	44,6	93,6	4,9E-18	
2	-155	-141,3	34,8	-0,7	4,0E-13	
3	-150	-135,7	33,7	-21,2	4,5E-12	C1
4	-145	-131,2	35,6	-16,0	2,3E-12	C1
5	-140	-126,7	37,6	-10,5	1,2E-12	C1
6	-135	-121,5	39,5	-7,0	7,3E-13	C1
7	-130	-117,2	42,4	0,3	2,5E-13	C1
8	-125	-112,5	43,7	4,1	1,8E-13	C1
9	-120	-105,9	44,7	6,9	1,3E-13	C1
10	-115	-103,3	47,9	13,6	5,5E-14	C1
11	-110	-96,3	49,5	17,5	3,3E-14	C1
12	-105	-94,5	52,5	24,5	1,4E-14	C1
13	-100	-89,4	54,7	28,4	8,6E-15	C1
14	-95	-84,7	56,2	28,5	8,3E-15	C1
15	-85	-75,5	79,0	138,8	1,4E-20	
16	-80	-71,0	62,5	38,1	2,4E-15	C2
17	-75	-65,8	66,7	51,0	5,0E-16	C2
18	-70	-59,4	71,5	63,6	1,1E-16	C2
19	-65	-56,5	75,8	79,4	1,6E-17	C2
20	-60	-52,6	82,3	102,7	9,4E-19	C2
21	-55	-45,2	81,1	85,4	7,2E-18	
22	-50	-41,4	89,1	114,1	2,3E-19	

**Annexe IV-4 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire de la cellulose
hydratée à 5% obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	-165	-148,2	31,6	-12,0	1,6E-12	
2	-160	-142,0	39,1	40,7	2,8E-15	
3	-155	-136,8	33,8	-17,9	3,0E-12	
4	-150	-132,5	34,7	-20,4	4,0E-12	C1
5	-145	-126,2	36,7	-17,6	2,7E-12	C1
6	-140	-121,9	40,0	-3,2	4,7E-13	C1
7	-135	-118,5	42,1	5,0	1,7E-13	C1
8	-130	-112,4	42,6	-3,5	4,6E-13	
9	-125	-108,1	44,6	1,5	2,4E-13	
10	-120	-102,9	45,0	-5,2	5,3E-13	C2
11	-115	-98,3	47,2	0,6	2,6E-13	C2
12	-110	-92,6	49,8	5,9	1,3E-13	C2
13	-105	-88,1	52,1	11,7	6,3E-14	C2
14	-100	-84,2	54,7	19,2	2,5E-14	C2
15	-95	-78,1	54,0	5,8	1,2E-13	
16	-90	-73,5	57,4	16,1	3,5E-14	

**Annexe IV-5 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire de la cellulose
hydratée à 7% obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	-165	-146,8	57,2	198,3	1,7E-23	
2	-160	-141,1	41,6	53,3	5,9E-16	
3	-155	-135,8	31,4	-39,0	3,8E-11	
4	-150	-130,2	36,8	-9,1	1,0E-12	C1
5	-145	-126,2	38,6	-4,3	5,5E-13	C1
6	-140	-121,9	40,2	-1,5	3,8E-13	C1
7	-135	-117,3	41,9	1,1	2,7E-13	C1
8	-130	-112,8	45,2	19,6	8,6E-14	
9	-125	-107,9	46,4	12,1	6,8E-14	
10	-120	-104,2	47,8	14,1	5,2E-14	C2
11	-115	-96,1	50,1	19,3	2,6E-14	C2
12	-110	-94,7	52,7	26,0	1,2E-14	C2
13	-105	-88,8	56,1	35,4	3,7E-15	C2
14	-100	-83,6	59,5	44,7	1,2E-15	C2
15	-95	-77,0	61,9	45,5	1,0E-15	

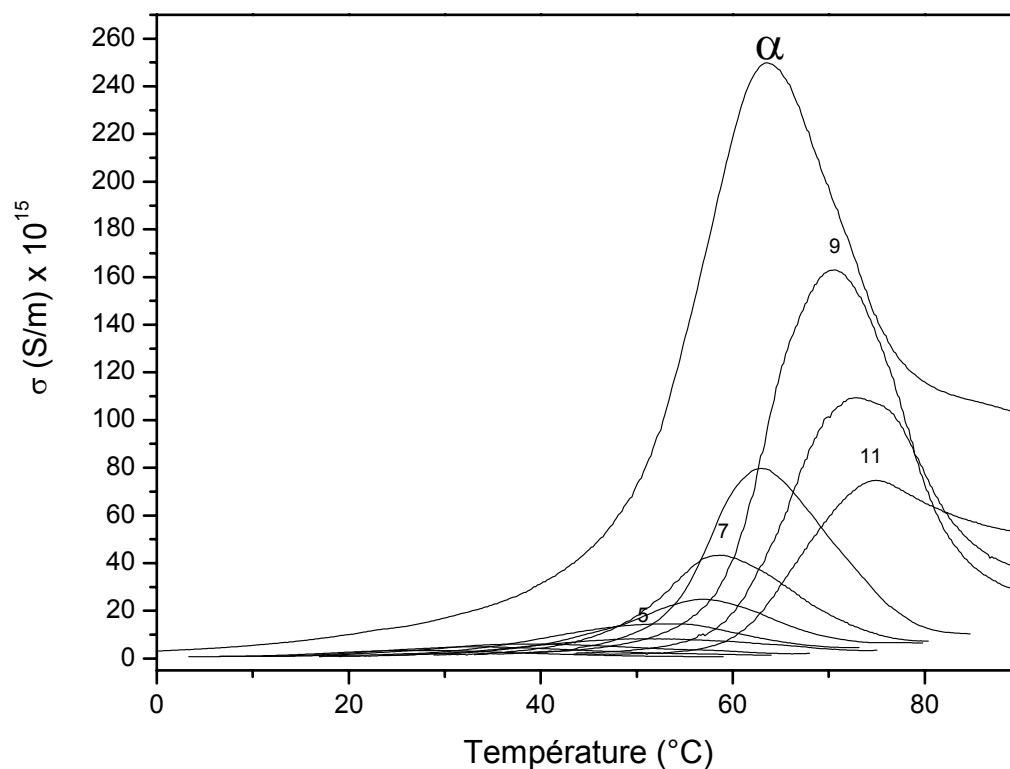
Annexe V-1 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire de l'*Arabidopsis Thaliana* naturelle obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	15	23,2	102,5	69,9	3,6E-17	C1
2	20	30,5	110,2	87,9	4,1E-18	C1
3	25	32,8	120,5	119,9	8,6E-20	C1
4	30	41,4	99,1	37,1	1,8E-15	C2
5	35	46,0	101,9	41,3	1,0E-15	C2
6	40	50,5	111,1	65,5	5,6E-17	C2
7	45	55,0	124,1	101,7	7,2E-19	C2
8	50	62,1	133,4	121,3	6,6E-20	C2
9	55	64,2	140,2	139,3	7,6E-21	C2
10	60	70,3	149,6	159,5	6,5E-22	C2
11	65	70,2	145,9	148,9	2,3E-21	
12	70	75,5	157,5	176,0	8,8E-23	
13	75	83,2	144,7	128,9	2,5E-20	
14	80	85,7	160,2	170,7	1,6E-22	

Annexe V-2 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire de l'*Arabidopsis Thaliana* naturelle obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	-150	-132,9	39,8	18,8	3,6E-14	
2	-145	-127,4	38,2	-4,9	5,9E-13	
3	-140	-120,3	36,3	-31,1	1,3E-11	
4	-135	-112,9	35,4	-49,2	1,1E-10	C1
5	-130	-110,3	37,9	-37,3	2,6E-11	C1
6	-125	-106,5	39,7	-32,1	1,4E-11	C1
7	-120	-102,6	42,0	-24,2	5,2E-12	C1
8	-115	-94,9	41,2	-40,3	3,4E-11	C2
9	-110	-91,5	44,5	-26,5	6,4E-12	C2
10	-105	-89,2	47,7	-11,7	1,1E-12	C2
11	-100	-84,2	52,3	6,1	1,2E-13	C2
12	-95	-77,9	52,5	-2,7	3,4E-13	C3
13	-90	-74,7	53,4	-2,9	3,4E-13	C3
14	-85	-70,8	55,6	2,8	1,7E-13	C3
15	-80	-66,3	57,7	6,8	1,0E-13	C3
16	-75	-59,5	60,5	10,4	6,5E-14	C3

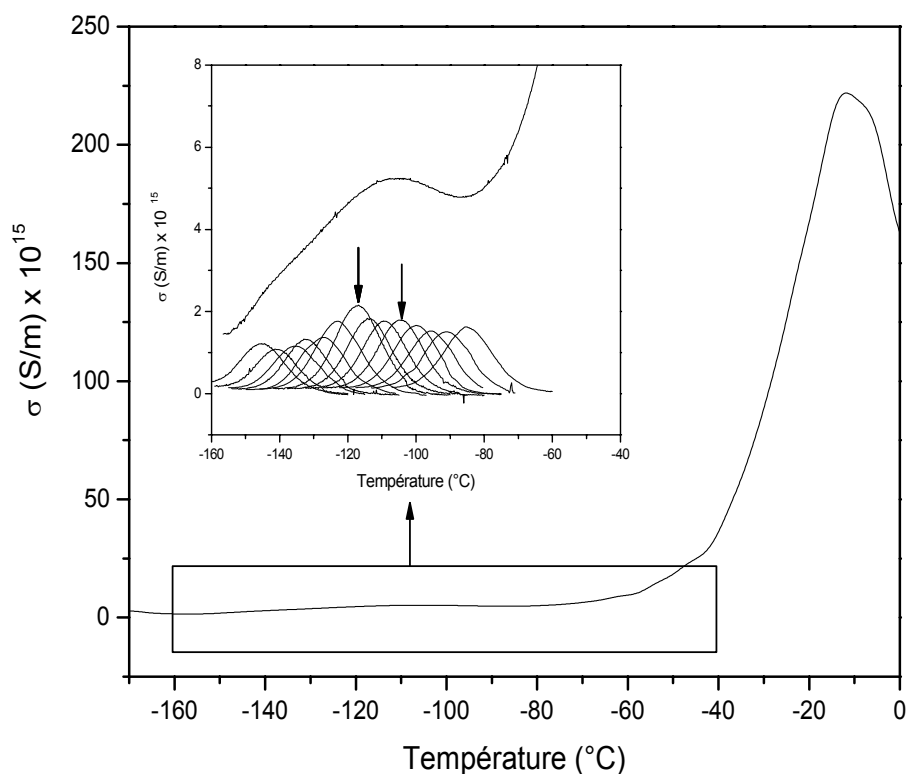
**Annexe V-3 : Résolution expérimentale du mode de relaxation primaire du mutant CAD C/D de
0°C à 90°C à 7°C/min**



**Annexe V-4 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire du mutant CAD C/D
obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	20	26,8	132,5	168,8	2,4E-22	
2	25	33,1	126,2	138,4	9,2E-21	
3	30	38,5	104,2	57,1	1,6E-16	C
4	35	51,4	97,0	20,2	1,3E-14	C
5	40	53,2	99,6	26,5	6,1E-15	C
6	45	60,8	118,8	76,9	1,4E-17	C
7	50	58,7	172,4	245,5	2,2E-26	C
8	55	63,0	240,3	445,1	8,0E-37	C
9	60	70,6	276,8	544,1	5,3E-42	C
10	65	73,2	215,2	350,2	7,0E-32	
11	70	75,0	192,1	278,9	3,7E-28	

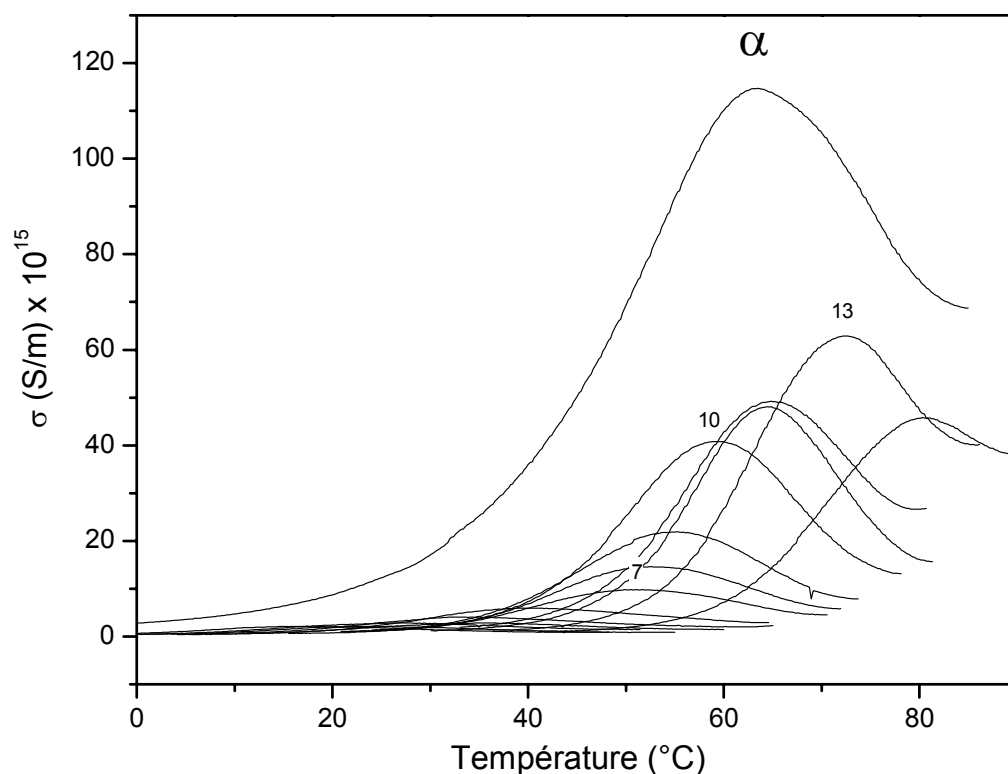
**Annexe V-5 : Résolution expérimentale des modes de relaxation secondaires du mutant
CAD C/D de -170°C à 0°C à 7°C/min**



**Annexe V-6 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire du mutant CAD C/D
obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T_p (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ_0 (s)	Compensation
1	-160	-145,2	32,2	-12,6	1,7E-12	
2	-155	-140,9	30,9	-32,6	1,8E-11	C1
3	-150	-135,4	32,4	-31,4	1,5E-11	C1
4	-145	-132,3	33,4	-30,4	1,3E-11	C1
5	-140	-127,2	35,1	-27,0	8,4E-12	C1
6	-135	-123,0	36,7	-24,0	5,8E-12	C1
7	-130	-117,0	38,8	-20,6	3,7E-12	C1
8	-125	-113,6	42,3	-3,0	4,3E-13	C1
9	-120	-109,2	44,1	0,1	2,9E-13	C2
10	-115	-104,5	47,6	13,9	5,3E-14	C2
11	-110	-100,0	49,5	16,8	3,7E-14	C2
12	-105	-95,5	52,9	28,8	8,4E-15	C2
13	-100	-90,8	56,7	42,1	1,7E-15	C2
14	-95	-84,8	54,3	18,2	2,9E-14	

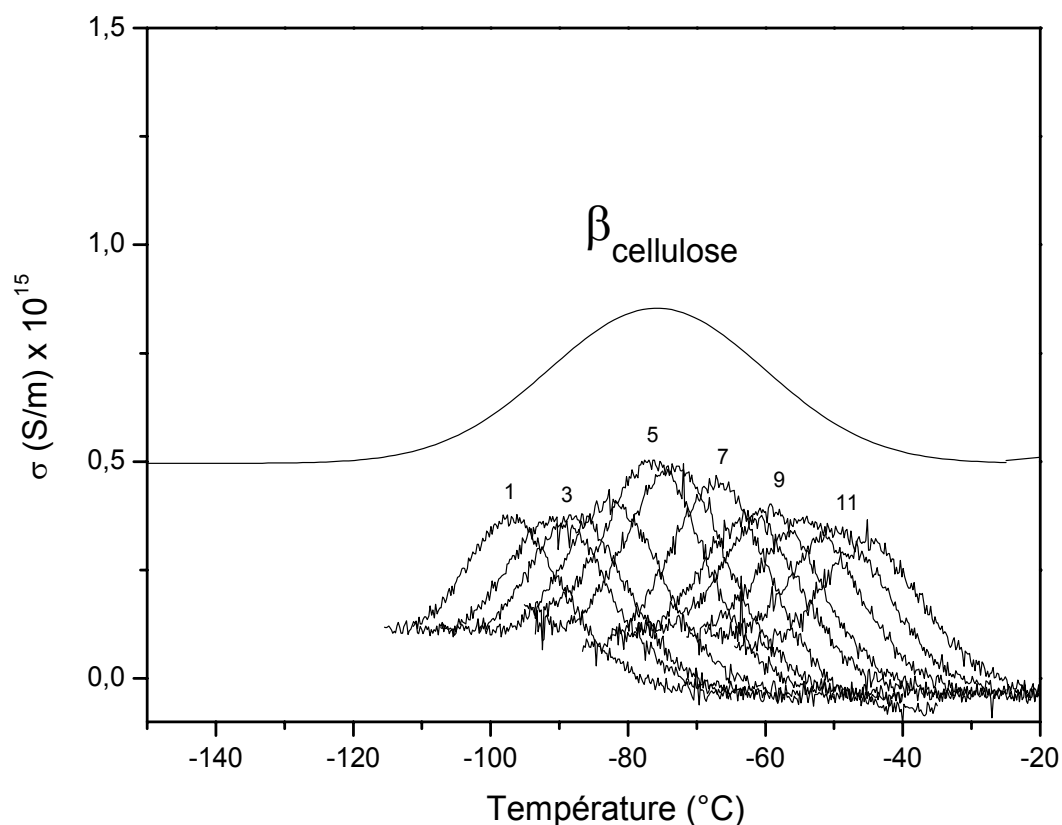
Annexe V-7 : Résolution expérimentale du mode de relaxation primaire du mutant DML6 de 0°C à 90°C à 7°C/min



Annexe V-8 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire du mutant DML6 obtenus par la méthode des polarisations fractionnées

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	15	23,2	123,8	144,2	4,7E-21	
2	20	35,6	101,0	50,7	3,5E-16	
3	25	33,7	107,1	72,8	2,5E-17	C
4	30	40,3	112,3	82,4	7,6E-18	C
5	35	50,7	118,5	92,7	1,2E-18	C
6	40	52,8	119,6	97,4	8,6E-19	C
7	45	55,1	121,6	102,7	5,8E-19	C
8	50	59,2	132,6	122,6	5,7E-20	C
9	55	64,4	155,4	185,0	3,1E-23	
10	60	65,0	140,3	138,8	7,9E-21	
11	65	72,5	143,9	140,0	6,8E-21	
12	70	80,0	136,4	108,3	3,0E-19	
13	75	84,6	159,1	168,5	2,1E-22	
14	80	92,8	119,0	44,5	6,2E-16	

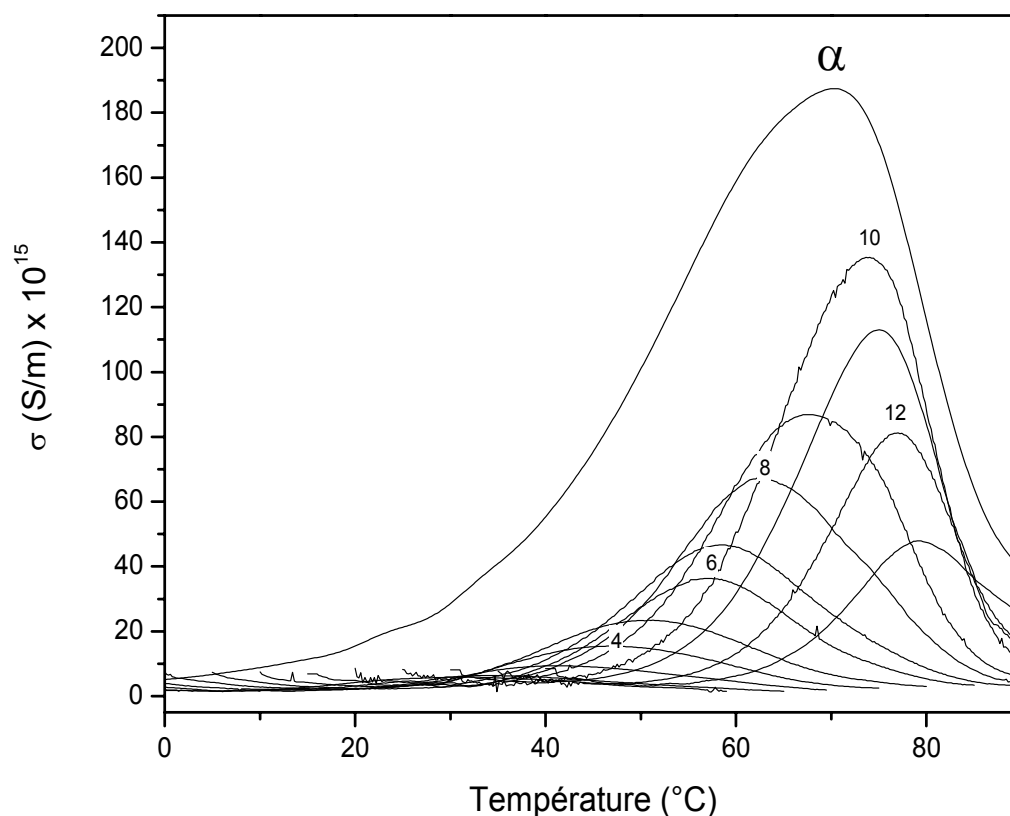
**Annexe V-9 : Résolution expérimentale du mode de relaxation secondaire du mutant DML6 de
-150°C à -20°C à 7°C/min**



**Annexe V-10 : Paramètres d'activation du mode de relaxation secondaire du mutant DML6
obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	-105	-96,7	56,1	49,8	6,8E-16	C
2	-100	-90,3	61,3	67,6	7,7E-17	C
3	-95	-87,6	63,5	74,3	3,4E-17	C
4	-90	-82,5	66,5	80,7	1,5E-17	C
5	-85	-76,4	70,6	90,3	4,7E-18	C
6	-80	-73,2	72,6	94,5	2,8E-18	C
7	-75	-67,0	77,1	106,0	6,8E-19	C
8	-70	-62,3	79,2	106,7	6,1E-19	C
9	-65	-59,5	85,5	131,4	3,1E-20	C
10	-60	-53,8	87,3	129,2	3,9E-20	C
11	-55	-49,6	98,4	172,1	2,2E-22	C
12	-50	-44,8	100,4	171,5	2,3E-22	C

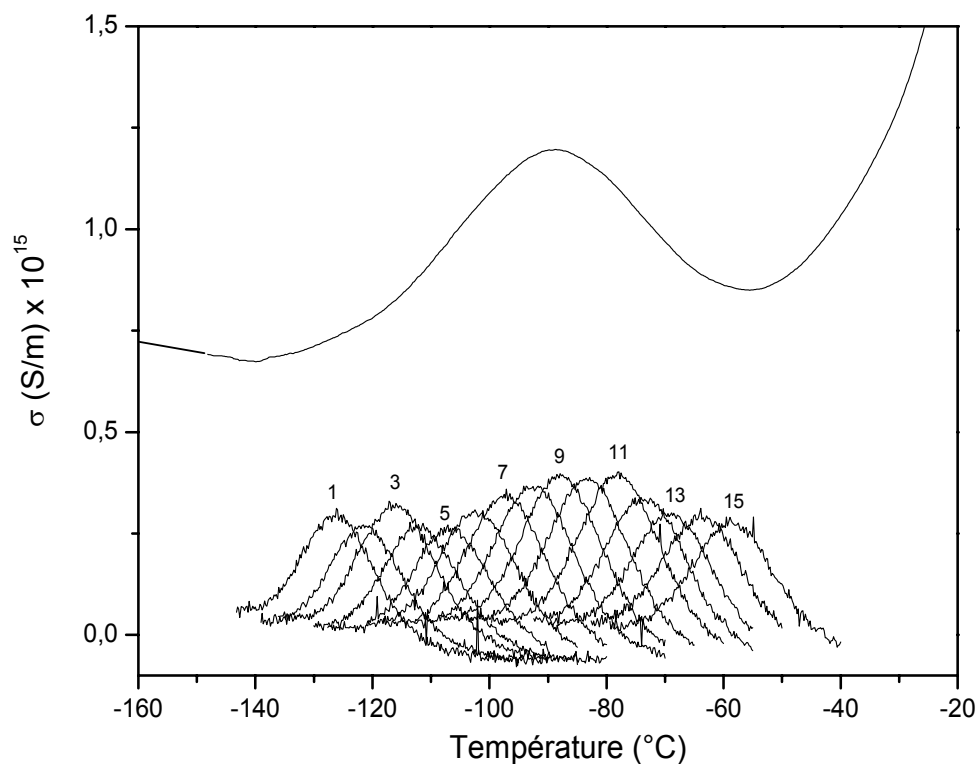
**Annexe V-11 : Résolution expérimentale du mode de relaxation primaire du mutant EBL 87 de
0°C à 90°C à 7°C/min**



**Annexe V-12 : Paramètres d'activation du mode de relaxation primaire du mutant EBL 87
obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T _p (°C)	T _{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ ₀ (s)	Compensation
1	20	31,4	125,2	139,0	8,7E-21	
2	25	34,4	117,8	108,5	3,4E-19	
3	30	41,4	122,5	114,0	1,7E-19	
4	35	46,7	123,3	110,4	2,6E-19	
5	40	50,7	114,1	75,5	1,7E-17	
6	45	57,3	123,7	97,5	1,2E-18	
7	50	58,5	120,7	86,5	4,4E-18	
8	55	62,8	134,7	124,2	4,6E-20	
9	60	67,7	133,8	115,6	1,3E-19	C
10	65	73,9	139,2	124,2	4,5E-20	C
11	70	75,2	143,4	134,5	1,3E-20	C
12	75	77,0	171,6	214,9	8,2E-25	C
13	80	79,2	185,3	251,4	1,0E-26	C

**Annexe V-13 : Résolution expérimentale des modes de relaxation secondaire du mutant EBL 87
de -160°C à -20°C à 7°C/min**



**Annexe V-14 : Paramètres d'activation des modes de relaxation secondaire du mutant EBL 87
obtenus par la méthode des polarisations fractionnées**

Elémentaire n°	T_p (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	τ_0 (s)	Compensation
1	-135	-126,2	41,5	16,1	4,7E-14	
2	-130	-121,6	45,3	33,1	5,9E-15	
3	-125	-116,1	43,5	10,0	9,2E-14	C1
4	-120	-111,6	47,5	26,9	1,2E-14	C1
5	-115	-107,0	51,4	42,4	1,8E-15	C1
6	-110	-102,2	55,7	58,5	2,5E-16	C1
7	-105	-97,3	52,2	27,9	9,5E-15	C2
8	-100	-92,6	56,0	41,7	1,8E-15	C2
9	-95	-87,9	62,5	69,6	6,0E-17	C2
10	-90	-83,2	57,2	31,0	6,1E-15	C3
11	-85	-77,9	61,7	46,3	9,4E-16	C3
12	-80	-73,5	67,5	68,8	6,1E-17	C3
13	-75	-69,0	72,9	88,0	5,9E-18	C3
14	-70	-63,6	83,1	128,9	4,2E-20	C3
15	-65	-58,2	76,1	83,7	9,5E-18	

Transitions et dynamique relaxationnelle de polymères issus de la paroi végétale

Frédéric ROIG

Physique des Polymères, Institut Carnot CIRIMAT, UMR CNRS 5085

Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex 09

Dans un futur proche, l'augmentation de CO₂ stimulera le processus de photosynthèse et pourrait permettre un accroissement considérable de la matière végétale. Comparativement aux sources d'énergie fossile comme le pétrole ou le charbon, la matière végétale représente une ressource renouvelable chaque année. La connaissance de ses propriétés physico-chimiques est primordiale. La modification du patrimoine génétique de certaines espèces végétales permet d'identifier les gènes responsables de la synthèse des polymères constitutifs.

L'objectif de ce travail de thèse est d'appliquer des techniques d'analyse thermique couplées à la spectroscopie diélectrique, à l'étude de la structure dynamique de la paroi végétale de l'*Arabidopsis Thaliana*.

Dans une approche analytique, les principaux polymères pariétaux extraits : la cellulose et la lignine, sont étudiés. La transition vitreuse de chaque polymère ainsi que la mobilité moléculaire localisée et délocalisée ont été déterminées.

La cellulose étant le constituant structural majeur de la paroi végétale, une attention particulière a été accordée à l'influence de son interaction avec l'eau sur sa structure physique. La diminution de la température de transition vitreuse quand le taux d'hygrométrie augmente, est caractéristique d'un phénomène de plastification.

L'étude comparative du composite végétal naturel avec ses polymères pariétaux a montré la contribution de la cellulose et de la lignine dans la dynamique de chaîne de l'*Arabidopsis Thaliana*. Ces interprétations mettent en évidence l'influence des modifications génétiques sur les interactions inter et intra moléculaires des polymères pariétaux.

MOTS-CLES : Biomasse, Composites naturels, Arabidopsis Thaliana, Cellulose, Lignine, Mutants, Transition Vitreuse, Modes de Relaxation, Mobilité Moléculaire, Liaisons Hydrogène